

Rec'd PCT/PTO 04 JAN 2005

CT/JPG3/03154

日本国特許庁

JAPAN PATENT OFFICE

17.03.03

3

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2002年 7月 5日

REC'D 09 MAY 2003

出願番号

Application Number:

特願2002-197560

[ST.10/C]:

[JP2002-197560]

出願人

Applicant(s):

日本たばこ産業株式会社
シンジェンタ リミテッド

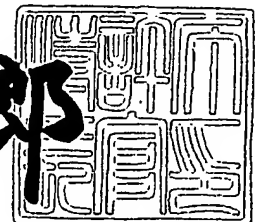
PRIORITY
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 4月22日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特2003-3029419

BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願

【整理番号】 021379

【提出日】 平成14年 7月 5日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12N

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県磐田郡豊田町東原700番地 株式会社オリノバ
内

【氏名】 小森 俊之

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県磐田郡豊田町東原700番地 株式会社オリノバ
内

【氏名】 高倉 由光

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県磐田郡豊田町東原700番地 株式会社オリノバ
内

【氏名】 鈴木 庄一

【特許出願人】

【識別番号】 000004569

【氏名又は名称】 日本たばこ産業株式会社

【特許出願人】

【識別番号】 501008820

【氏名又は名称】 シンジェンタ リミテッド

【代理人】

【識別番号】 100089705

【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル2
06区 ユアサハラ法律特許事務所

【弁理士】

【氏名又は名称】 社本 一夫

【電話番号】 03-3270-6641

【選任した代理人】

【識別番号】 100076691

【弁理士】

【氏名又は名称】 増井 忠武

【選任した代理人】

【識別番号】 100075270

【弁理士】

【氏名又は名称】 小林 泰

【選任した代理人】

【識別番号】 100080137

【弁理士】

【氏名又は名称】 千葉 昭男

【選任した代理人】

【識別番号】 100096013

【弁理士】

【氏名又は名称】 富田 博行

【選任した代理人】

【識別番号】 100107386

【弁理士】

【氏名又は名称】 泉谷 玲子

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 051806

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9814816

【包括委任状番号】 0105223

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 イネBT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子

【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する方法。

【請求項2】

配列番号75のアミノ酸配列をコードする核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸が、以下のa) - j) の核酸から選択される、請求項1又は2に記載の方法：

- a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；、
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；
- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
- f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
- g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
- h) 上記a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも70%同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
- i) 上記a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び
- j) 上記a) - g) のいずれかの核酸に1ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

【請求項4】

配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも

70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件1) - 6) の少なくとも一つを満たす、請求項3に記載の方法：

- 1) 配列番号69の塩基1769に相当する塩基がAである；
- 2) 配列番号70の塩基1767に相当する塩基がAである；
- 3) 配列番号71の塩基1772に相当する塩基がAである；
- 4) 配列番号72の塩基1762に相当する塩基がAである；
- 5) 配列番号73の塩基1703に相当する塩基がAである；又は
- 6) 配列番号74の塩基1779に相当する塩基がAである。

【請求項5】

配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を利用して被検定イネ個体又は種子が稔性回復遺伝子（Rf-1遺伝子）を有するか否かを識別する方法。

【請求項6】

以下のa) - j) の核酸：

- a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；、
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；
- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
- f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
- g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
- h) 上記a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも70%同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
- i) 上記a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のスリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び
- j) 上記a) - g) のいずれかの核酸に1ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸

のいずれかを利用する、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稈性回復機能を有する核酸が、以下の条件 1) - 6) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子を有すると判断する、請求項 5 又は 6 に記載の方法：

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である；
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である；
- 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である；
- 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である；又は
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である。

【請求項 8】

i) 以下のいずれかの塩基、

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基；
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基；
- 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基；
- 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基；及び
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するようにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子の有無を識別する、請求項 6 又は 7 に記載の方法。

【請求項 9】

工程 i i i) が、以下の条件 1) - 6) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子を有すると判断する、請求項 8 に記載の方

法：

- 1) 配列番号69の塩基1769に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；
- 2) 配列番号70の塩基1767に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；
- 3) 配列番号71の塩基1772に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；
- 4) 配列番号72の塩基1762に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；
- 5) 配列番号73の塩基1703に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；又は
- 6) 配列番号74の塩基1779に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない。

【請求項10】

配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入することにより、R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法。

【請求項11】

配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸が、以下のa) - j) の核酸から選択される、請求項10に記載の方法：

- a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；、
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；
- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
- f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；

g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279 を含む核酸；

h) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

i) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

j) 上記 a) - g) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

【請求項 12】

配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸。

【請求項 13】

以下の a) - j) の核酸から選択される、請求項 11 に記載の核酸：

a) 配列番号 69 の塩基 215-2587 を含む核酸；

b) 配列番号 70 の塩基 213-2585 を含む核酸；、

c) 配列番号 71 の塩基 218-2590 を含む核酸；

d) 配列番号 72 の塩基 208-2580 を含む核酸；

e) 配列番号 73 の塩基 149-2521 を含む核酸；

f) 配列番号 74 の塩基 225-2597 を含む核酸；

g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279 を含む核酸；

h) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

i) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

j) 上記 a) - g) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、イネBT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子に関する。

【0002】

【従来の技術】

イネは自殖性植物であるため、品種間で交雑を行う場合には、まず自家受精を避けるためにイネの穎花が開花する直前に穎花内の雄しべを全て取り除き、次いで交雑をする花粉親品種由来の花粉を用いて受精させる必要がある。しかしながら、このような手作業による交雑方法で商業的規模での大量の雑種種子を生産することは不可能である。

【0003】

そこで、ハイブリッドライスの生産には、細胞質雄性不稔を利用する三系法が利用されている。三系法とは、雄性不稔細胞質を保有する系統である不稔系統、Rf-1遺伝子を保有する系統である回復系統、および核遺伝子是不稔系統と同一であって不稔細胞質を保有しない系統である維持系統とを使用する方法をいう。これらの3系統を用いて、(i) 不稔系統に回復系統の花粉を受精させることによりハイブリッド種子を獲得することができ、(ii) 一方、不稔系統に維持系統の花粉を受精させることにより不稔系統を維持することができる。

【0004】

三系法でBT型雄性不稔細胞質を利用するにあたっては、回復系統のイネを育成するために、育種における各過程で育成中のイネがRf-1遺伝子を保有すること、また、最終段階ではRf-1遺伝子をホモで保有することを確認する必要がある。また、三系法において、回復系統に使用する品種が確実にRf-1遺伝子を保有することを調べたり、得られたハイブリッド種子が稔性を回復しているか確認するために、Rf-1遺伝子の存在を調べる必要が生じる場合もある。

【0005】

従来、植物体中でのRf-1遺伝子座の遺伝子型を推定するためには、まず、検定系統と交配を行った交配種子から植物体(F1)を形成し、次いでF1植物を自殖させてその種子の形成率が一定以上(例えば70~80%以上)である個体の出現頻度を調査する必要があった。なお、検定系統とは、維持系統、不稔系統あるいは両系統のセットを指し、目的とする被検定個体の細胞質がBT型か通

常細胞質か、あるいは不明かにより適宜選択するものである。不稔系統を検定系統として用いる場合は母親として、維持系統を検定系統として用いる場合は父親として、それぞれ被検定個体に交配する。

【0006】

しかしながら、これらの方法を行うには、莫大な労力と時間を要する。また、種子稔性は、環境要因の影響を受けやすいので、低温・日照不足などの不良環境で調査すれば、遺伝子型の構成によらず不稔になる場合があり、Rf-1遺伝子座の遺伝子型推定が正確に行えないという問題を有していた。

【0007】

このような問題を解消するために、最近では、分子生物学的方法によりRf-1遺伝子の存在を判別する方法も提案されている。それは、Rf-1遺伝子と連鎖する塩基配列（以下、DNA マーカーという）を検出することにより、Rf-1遺伝子の存在または不存在を調べる方法である。因みに、Rf-1遺伝子のDNA配列は未解読であるため、直接Rf-1遺伝子を検出することは、現在の技術では不可能であった。

【0008】

例えば、イネのRf-1遺伝子座は第10染色体上に存在し、そして、制限酵素断片長多型（RFLP）解析に使用することができるDNAマーカー（RFLPマーカー）座G291とG127との間であることが報告されている（Fukuta et al. 1992, Jpn J. Breed. 42 (supl. 1) 164-165）。このため、Rf-1遺伝子と連鎖するDNAマーカー座G291およびG127の遺伝子型を調査することにより、Rf-1遺伝子座の遺伝子型を推定することが可能である。

【0009】

しかしながら、従来の分子生物学的方法にはいくつかの問題が存在する。第一の問題は、従来の方法では、使用するマーカーがRFLPマーカーであり、これを検出するためにはサザンブロット解析を行う必要があるという点である。サザンブロット解析を行うためには、被検定個体から数マイクログラム単位の精製されたDNAを必要とし、さらに制限酵素処理、電気泳動、ブロッティング、プロ

ープとのハイブリダイゼーション、およびシグナルの検出からなる一連の作業手順を行う必要があるため、多大な労力が必要であるうえに、検定結果を得るまでに1週間程度かかっていた。

【0010】

第二の問題は、RFLPマーカー座G291とG127の間の遺伝子地図距離は約30 cM（イネDNAでは約9000 kbpに相当する）と長いため、二重組換えが起こる可能性が数%程度はあると考えられ、Rf-1遺伝子座の遺伝子型が必ずしも正確に推定できないことである。

【0011】

さらに第三の問題は、Rf-1遺伝子の存在をRFLPマーカー座G291およびG127の遺伝子型を調査することにより推定する場合、選抜の結果育成される稔性回復系統には、Rf-1遺伝子と共に、RFLPマーカー座G291とG127の間の遺伝子領域も導入されるという点である。その結果、導入DNA配列は30 cM以上のRf-1遺伝子ドナー親由来の染色体領域を有することになり、導入DNA領域中に存在する可能性がある劣悪遺伝子をRf-1遺伝子と同時に導入してしまう危険性があった。

【0012】

このような問題を解決するため、Rf-1遺伝子座と連鎖する優性DNAマーカー（特開平7-222588）および共優性DNAマーカー（特開平9-313187）が開発されている。これらのマーカーは、Rf-1遺伝子座とそれぞれ、 1.6 ± 0.7 cM（イネDNAでは約480 kbpに相当）および 3.7 ± 1.1 cM（イネDNAでは約1110 kbpに相当）の遺伝的距離で連鎖しており、両座はRf-1遺伝子座を挟む位置関係にある。そのため、優性PCRマーカー座および共優性PCRマーカー座は、これらが両方とも存在することを検出することにより、Rf-1遺伝子の存在を推定することができる。また、共優性PCRマーカーの使用は、Rf-1遺伝子座の遺伝子型がホモかヘテロかも推定することを可能にする。

【0013】

しかしながら、これらのPCRマーカーを使用する場合にも、依然としていく

つかの問題がある。この共優性マーカーは $Rf-1$ 遺伝子座と 3.7 ± 1.1 cM の遺伝距離を有するため、 $Rf-1$ 遺伝子座との間での組換え頻度が高いという問題が十分には解決されていない。その結果、共優性マーカー自体についてはホモ型またはヘテロ型まで正確に検出することができるが、共優性マーカー座と $Rf-1$ 遺伝子座との間で組換えが生じる場合に、 $Rf-1$ 遺伝子座の遺伝子型の推定、特にホモ型またはヘテロ型までの推定を正確に実施できないという問題がある。一方、優性マーカーを使用して $Rf-1$ 遺伝子座の遺伝子型を推定する場合、優性マーカーでは $Rf-1$ 遺伝子がホモの個体 ($Rf-1/Rf-1$) およびヘテロの個体 ($Rf-1/rf-1$) の両方を区別することなく検出してしまう。そのため、上記共優性マーカーと優性マーカーとを組み合わせを利用して $Rf-1$ 遺伝子座の遺伝子型を推定したとしても、 $Rf-1$ 遺伝子に関するホモ型とヘテロ型とを正確に識別することはできない。また、優性マーカーを用いて行う PCR では、PCR 産物が得られなかった場合には、実験操作上の問題に起因する可能性も否定できない。さらに、これらの共優性マーカーと優性マーカーとの間の遺伝的距離が約 5.3 cM (約 1590 kbp) と離れているため、 $Rf-1$ 遺伝子ドナー親からの導入染色体領域長を短い長さに限定することができないので、この領域中に含まれる劣悪遺伝子の持ち込みを抑制できないという問題点も有している。

【0014】

さらに、特開 2000-139465 には、イネ第 10 染色体の $Rf-1$ 遺伝子の近傍に座乗する RFLP マーカーの塩基配列に基づいて開発された、共優性 PCR マーカーが記載されている。しかしながら、それらの PCR マーカーは、依然として $Rf-1$ 遺伝子からの遺伝的距離が約 1 cM より離れているという問題を有している。

【0015】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、イネの稔性を回復する方法を提供することを目的とする。本発明の方法は、配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有

する核酸をイネに導入する、ことを含む。本発明の方法の、好ましい一態様において、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸は、以下のa) - j) の核酸から選択される：

- a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；、
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；
- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
- f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
- g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
- h) 上記a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも70%同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
- i) 上記a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のスリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び
- j) 上記a) - g) のいずれかの核酸に1ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

【0016】

本発明の方法において、上記配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸は、好ましくは、以下の条件1) - 6) の少なくとも一つを満たす：

- 1) 配列番号69の塩基1769に相当する塩基がAである；
- 2) 配列番号70の塩基1767に相当する塩基がAである；
- 3) 配列番号71の塩基1772に相当する塩基がAである；
- 4) 配列番号72の塩基1762に相当する塩基がAである；
- 5) 配列番号73の塩基1703に相当する塩基がAである；又は
- 6) 配列番号74の塩基1779に相当する塩基がAである。

【0017】

本発明はまた、上記配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を利用して、被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有するか否かを識別する方法を提供することを目的とする。本発明の方法は、一態様において、好ましくは、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件 1) - 6) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する：

- 1) 配列番号 6 9 の塩基 1 7 6 9 に相当する塩基が A である；
- 2) 配列番号 7 0 の塩基 1 7 6 7 に相当する塩基が A である；
- 3) 配列番号 7 1 の塩基 1 7 7 2 に相当する塩基が A である；
- 4) 配列番号 7 2 の塩基 1 7 6 2 に相当する塩基が A である；
- 5) 配列番号 7 3 の塩基 1 7 0 3 に相当する塩基が A である；又は
- 6) 配列番号 7 4 の塩基 1 7 7 9 に相当する塩基が A である。

【 0 0 1 8 】

本発明は、さらに、R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法を提供することを目的とする。本発明の抑制方法は、一態様において、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも 1 0 0 塩基の長さのアンチセンスを導入する、ことを含む。

【 0 0 1 9 】

本発明はさらにまた、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、を提供することを目的とする。本発明は、一態様において、以下の a) - j)

- a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7 を含む核酸；
- b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5 を含む核酸；、
- c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0 を含む核酸；

- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
 - e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
 - f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
 - g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
 - h) 上記a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも70%同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
 - i) 上記a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のスリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び
 - j) 上記a) - g) のいずれかの核酸に1ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸
- から選択される核酸を提供する。

【0020】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、まず、Rf-1の存在部位を第10染色体上の極めて狭い範囲に特定した。その結果に基づいて、Rf-1遺伝子座の近傍に存在するPCRマーカーを開発し、これらのPCRマーカーが、Rf-1遺伝子座と連鎖することを利用して、Rf-1遺伝子を検出する方法が見出された。具体的には、Rf-1遺伝子座が、イネ第10染色体上に存在するPCRマーカー座S12564 Tsp509I座とC1361 MwoI座との間に座乗することを利用して、近傍に存在する新規のPCRマーカー座の遺伝子型を調査することにより、Rf-1遺伝子の有無の調査およびRf-1遺伝子ホモ型個体の選抜を実施する。当該Rf-1遺伝子を検出する方法につき、本発明者らは、平成12年8月17日に特願2000-247204として特許出願を行っている。当該出願の全内容は参考文献として本明細書に援用される。

【0021】

I. 特願2000-247204に記載のRf-1遺伝子座の遺伝子型を推定する方法

特願2000-247204は、Rf-1遺伝子座がイネ第10染色体上のRFLPマーカー座S12564座とC1361座との間に座乗することを利用し

て、被検定イネ個体または種子がRf-1遺伝子を持つか否かを識別する方法について記載している。

【0022】

マーカー

Rf-1遺伝子座の近傍に存在する特定の領域に対して設計したプライマー対を用いてPCRを行い、その産物を特定の制限酵素で処理後電気泳動にかけると、ジャポニカ系統とインディカ系統との間で、異なる大きさのバンドが観察されることがある。そのような場合、インディカ系統に特徴的なバンドをRf-1連鎖バンドとする。本発明者らにより、Rf-1遺伝子座は、イネ第10染色体上に存在するPCRマーカー座S12564 Tsp509I座とC1361 MwoI座との間に座乗することが明らかにされ、その周辺でのPCRマーカーは当業者が適宜開発して使用可能となった。

【0023】

例えば、下記の群から選択されるPCRマーカーの少なくとも1個を被検体イネのゲノム中に存在するか否か検出することにより、被検定個体がこれらのPCRマーカーと連鎖するRf-1遺伝子を持つか否かを識別する：

(1) マーカー1： 配列番号1および配列番号2の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素EcoRI認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーR1877 EcoRI；

(2) マーカー2： 配列番号3および配列番号4の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素HindIII認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーG4003 HindIII（配列番号19）；

(3) マーカー3： 配列番号5および配列番号6の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素MwoI認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーC1361 MwoI（配列番号20）；

(4) マーカー 4 : 配列番号 7 および配列番号 8 の配列を有する DNA をプライマーとして用いてゲノミック PCR を行い、得られた産物中の、制限酵素 Mwo I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCR マーカー G2155 Mwo I (配列番号 21) ;

(5) マーカー 5 : 配列番号 9 および配列番号 10 の配列を有する DNA をプライマーとして用いてゲノミック PCR を行い、得られた産物中の、制限酵素 Msp I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCR マーカー G291 Msp I (配列番号 22) ;

(6) マーカー 6 : 配列番号 11 および配列番号 12 の配列を有する DNA をプライマーとして用いてゲノミック PCR を行い、得られた産物中の、制限酵素 Bsl I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCR マーカー R2303 Bsl I (配列番号 23) ;

(7) マーカー 7 : 配列番号 13 および配列番号 14 の配列を有する DNA をプライマーとして用いてゲノミック PCR を行い、得られた産物中の、制限酵素 Bst UI 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCR マーカー S10019 Bst UI (配列番号 24) ;

(8) マーカー 8 : 配列番号 15 および配列番号 16 の配列を有する DNA をプライマーとして用いてゲノミック PCR を行い、得られた産物中の、制限酵素 Kpn I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCR マーカー S10602 Kpn I (配列番号 25) ; および

(9) マーカー 9 : 配列番号 17 および配列番号 18 の配列を有する DNA をプライマーとして用いてゲノミック PCR を行い、得られた産物中の、制限酵素 Tsp 509 I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCR マーカー S12564 Tsp 509 I (配列番号 26) 。

【0024】

なお、上記PCRマーカーは、Rf-1遺伝子座が、イネ第10染色体上の9個のRFLPマーカー領域R1877、G291、R2303、S12564、C1361、S10019、G4003、S10602、およびG2155付近に座乗する可能性が高いと考え（Fukuta et al. 1992, Jpn J. Breed. 42 (supl. 1) 164-165によるRFLP連鎖解析結果、およびHarushima et al. 1998, Genetics 148 479-494によるイネRFLP連鎖地図を参照）、これらのRFLPマーカーを、後記参考例1に記載するようにして、共優性PCRマーカーであるCAPSマーカーまたはdCAPSマーカー（Michaels and Amasino 1998, The Plant Journal 14 (3) 381-385; Neff et al. 1998, The plant Journal 14 (3) 387-392）に変換した。この変換により、上記PCRマーカーが得られた。

【0025】

これらのPCRマーカーのうち、PCRマーカーR1877 EcoRI、G291 MspI（配列番号22）、R2303 BslI（配列番号23）およびS12564 Tsp509I（配列番号26）からなる群と、PCRマーカーC1361 MwoI（配列番号20）、S10019 BstUI（配列番号24）、G4003 HindIII（配列番号19）、S10602 KpnI（配列番号25）、およびG2155 MwoI（配列番号21）からなる群とは、第10染色体上でRf-1遺伝子座を挟んで反対側に存在する。

【0026】

従って、一態様において、（a）PCRマーカーR1877 EcoRI、G291 MspI、R2303 BslIおよびS12564 Tsp509Iからなる群から選択される少なくとも1個のPCRマーカー、並びに（b）PCRマーカーC1361 MwoI、S10019 BstUI、G4003 HindIII、S10602 KpnI、およびG2155 MwoIからなる群から選択される少なくとも1個のPCRマーカーによりRf-1連鎖バンドを検出することにより、Rf-1遺伝子の存在を検出する。その際、上記（a）の

群から Rf-1 遺伝子に最も近いマーカーとして、少なくとも PCR マーカー S12564 Tsp509I および上記 (b) の群から少なくとも C1361 MwoI を使用することが好ましい。被検定イネのゲノム中に、(a) の PCR マーカーによる Rf-1 連鎖バンドと (b) の PCR マーカーによる Rf-1 連鎖バンドの両方が検出されれば、そのイネが Rf-1 遺伝子を有する可能性を高い確率で推定することができる。

【0027】

別の態様においては、上記 (a) の群から少なくとも二つの PCR マーカー、及び (b) の群から少なくとも二つの PCR マーカーにより Rf-1 連鎖バンドを検出する。例えば、(a) 及び (b) の群のマーカーのうち、図 1 に示す遺伝子地図において、Rf-1 遺伝子により近いマーカーにより Rf-1 連鎖バンドが検出され、それより Rf-1 遺伝子から遠いマーカーにより Rf-1 連鎖バンドが検出されないイネ個体を選抜することにより、Rf-1 遺伝子を有するが、不要な遺伝子領域をできるだけ含まないイネを選抜することが可能である。この場合も、(a) 及び (b) の各群のマーカーのうち少なくとも一つは、それぞれ PCR マーカー S12564 Tsp509I および C1361 MwoI であることが好ましい。すなわち、2 種の PCR マーカー座 S12564 Tsp509I と C1361 MwoI は、マーカー座間距離にして 0.3 cM 離れている。この性質を利用することにより、Rf-1 遺伝子ドナー親から導入する染色体領域を 1 cM 程度に狭めることができる。その結果、ドナー親の Rf-1 遺伝子近傍に存在する可能性がある劣悪遺伝子が回復系統に導入される可能性を最小限に抑えることができる。

【0028】

Rf-1 遺伝子の検出

被検定イネゲノム中の Rf-1 遺伝子を検出するには、上記配列番号 1-18 のプライマーを用いて、被検定イネゲノムから上記 PCR マーカーのいずれかを PCR で増幅させ、ポリメラーゼ連鎖反応-制限酵素断片長多型 (PCR-RFLP) 法で検出する。PCR-RFLP 法は、比較する品種系統間において、PCR により増幅した DNA 断片配列中の制限酵素認識部位に多型が存在する場合

に、その制限酵素による切断パターンからいずれの型であるかを簡便に決定する方法である (D. E. Harry, et al., Theor Appl Genet (1998) 97:327-336)。

【0029】

制限酵素による切断パターンとしては、可視化されたゲル上に、使用したプライマー対に応じて、以下の表1のようなバンドの存在の有無が確認される。

【0030】

【表1】

	検出されるバンドの およそのサイズ (bp)

プライマー対1によるマーカー1の検出 (R1877 EcoRI)	
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合:	1500及び1700
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合:	1500、1700及び3200
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合:	3200

プライマー対2によるマーカー2の検出 (G4003 HindIII)	
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合:	362
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合:	95、267及び362
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合:	95及び267

プライマー対3によるマーカー3の検出 (C1361 MwoI)	
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合:	50及び107
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合:	25、50、79及び107
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合:	25、50及び79

プライマー対4によるマーカー4の検出 (G2155 MwoI)	
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合:	25、27及び78

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 25、27、78及び105

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 25及び105

プライマー対5によるマーカー5の検出 (G291 MspI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 25、49及び55

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 25、49、55及び104

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 25及び104

プライマー対6によるマーカー6の検出 (R2303 BslI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 238、655及び679

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 238、655、679
及び1334

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 238及び1334

プライマー対7によるマーカー7の検出 (S10019 BstUI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 130、218及び244

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 130、218、244
及び462

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 130及び462

プライマー対8によるマーカー8の検出 (S10602 KpnI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 724

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 117、607及び724

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 117及び607

プライマー対9によるマーカー9の検出 (S12564 Tsp509I)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 41及び117

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 26、41、91及び117

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 26、41及び91

【0031】

II. Rf-1 遺伝子座領域の特定

以上、特願2000-247204において、Rf-1 遺伝子座がDNAマーカー座S12564 Tsp509IとC1361 MwoI座との間に座乗することが本発明者らにより明らかにされ、これを利用したRFLP-PCR用マーカーが記載されている。Rf-1 遺伝子を持たない通常のジャポニカ品種に、戻し交雑によりRf-1 遺伝子を導入することにより回復系統が育成される。その過程で、特願2000-247204に記載のRf-1 遺伝子座の識別方法を用いると、回復系統の育成が効率的（必要期間は2～3年）になるだけでなく、導入断片長を制御することができる。

【0032】

しかしながら、交雑による導入では、Rf-1 極近傍領域をも同時に導入することは避けられない。特願2000-247204において、Rf-1 遺伝子座がDNAマーカー座S12564 Tsp509IとC1361 MwoI座との間に座乗することが解明されたが、両遺伝子座は約0.3 cM、即ち約90 kbである。仮にRf-1 極近傍に劣悪遺伝子が存在すれば、Rf-1 遺伝子とともにその劣悪遺伝子も導入される可能性が否定できない。

【0033】

そこで、本発明者らはDNAマーカー座S12564 Tsp509IとC1361 MwoI座の間の領域について、Rf-1 遺伝子座とDNAマーカー座S12564 Tsp509Iとが密接連鎖することを手がかりに、染色体歩行および遺伝学的解析を行うことにより、Rf-1 遺伝子と連鎖する領域を調べた。その結果、Rf-1 遺伝子を含むRf-1 遺伝子座領域を約76 kbまで特定し、そして当該領域の全塩基配列を決定することに成功した。本発明により、BT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子の機能を遺伝子工学的に導入することが可能となった。

【0034】

具体的には、特願2000-247204では、MSコシヒカリにMS-FR

コシヒカリ (R f - 1 座ヘテロ) の花粉をかけて作成した集団 1 0 4 2 個体を用いて連鎖分析を行い、R f - 1 座と S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体を 1 個体、R f - 1 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換え個体を 2 個体見出した (本明細書中の参考例 1 - 2)。本発明では、上記集団をさらに 4 1 0 3 個体追加し、合計 5 1 4 5 個体として解析を行った。その結果、新たに、R f - 1 座と S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体を 1 個体、R f - 1 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換え個体を 6 個体見出し、それぞれの組換え個体の合計を 2 個体および 8 個体とした。これら 1 0 個体を R f - 1 座極近傍組換え個体として、本発明の高精度分離分析に供試することとした (実施例 1)。

【 0 0 3 5 】

R f - 1 座と S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体が 2 個体に対し、C 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換え個体が 8 個体という上記の組換え個体出現頻度は、S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座と C 1 3 6 1 M w o I 座とを比較すると、S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座のほうが遺伝学的に R f - 1 座に近いことを意味する。遺伝的距離 (組換え価 c M が単位) と物理的距離 (塩基対数 b p が単位) とは必ずしも比例しないが、通常は遺伝的距離が短ければ物理的距離も短いと期待できる。

【 0 0 3 6 】

そこで、S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座を起点に染色体歩行を行うことにより、R f - 1 座を単離することとした (実施例 2)。染色体歩行には、インディカ品種 I R 2 4 およびジャポニカ品種あそみのりのゲノム DNA を用いて λ D A S H I I

ベクターにより作成したゲノミックライブラリーを供試した。I R 2 4 は R f - 1 保有品種、あそみのりは R f - 1 非保有品種である。染色体歩行を進めた結果、I R 2 4 のゲノミッククローンにより約 7 6 k b の染色体領域をカバーするコンティグ (複数のクローンを重複部分で重ね合わせて染色上での順に整列化したもの) を作成することができ、その全塩基配列 (7 6 3 6 3 b p) を決定した。

【 0 0 3 7 】

次いで、得られた塩基配列情報等を利用することにより、新たに12個のマーカーを開発し、既述のRf-1座極近傍組換え個体10個体を用いて、高精度分離分析を行った（実施例3）。その結果、上記の約76kbの染色体領域に含まれる65kbの配列がRf-1遺伝子の機能の有無を決定する配列を包含することが示された。この領域は、8個のゲノミッククローンから構成されるコンティグによりカバーされている。各クローンの長さは、約12～22kbであり少なくとも4.7kbの重複部を持つ。一方、イネの遺伝子の長さについては、短いものから長いものまでであることが知られているが、大部分の遺伝子は数kb以内であると考えられる。そのため、これら8個のゲノミッククローンのうち、少なくともひとつは完全長のRf-1遺伝子を包含すると予測される。

【0038】

本発明者らはさらに、上記76kbの染色体領域のうち、Rf-1遺伝子領域をさらに絞り込むと共に、稔性回復能の存在を直接的に証明するために、相補性試験を行った。

【0039】

具体的には、雄性不稔系統であるMSコシヒカリの未熟種子に、上記76kb領域内の10個の部分断片（各10～21kb）を、別々に遺伝子工学的に導入した（図5）。使用された10個の部分断片のうち、8個は先に染色体歩行で得られた8個のゲノミッククローン（図1、実施例3に記載のXSE1、XSE7、XSF4、XSF20、XSG22、XSG16、XSG8及びXSH18）に由来するものである。これらに加えて、さらに2個のクローンXSF18およびXSX1に由来する断片についても相補性試験を行った。XSF18はXSF20と5'末端及び3'末端（各々、配列番号27の塩基20328及び41921）が同一だが、途中の塩基33947-38591を欠いている。これは、最初にクローンXSF18が単離されたが、単離後の増殖の過程で上記欠失を生じたことが判明したため、再度増殖をやり直すことにより、完全型のクローンを単離し、XSF20と命名したことに因る（実施例8）。また、XSX1は、クローンXSG8とXSH18の重複部分がやや小さいため（約7kb）、制限酵素処理およびライゲーションにより両クローンから、重複部分を十分に含むよう

なクローンを新たに作成したものである（実施例13）。

【0040】

Rf-1は優性遺伝子であるので、導入した断片がRf-1遺伝子を完全に包含している場合には、形質転換植物当代において稔性が回復する。相補性試験において、各断片について形質転換植物の種子稔性調査を行い、λファージクローンXSG16に由来する15.6kb断片（配列番号27の塩基38538-54123を含む）を導入した形質転換体において、種子稔性が回復していることが見出された（実施例10）。他の断片については、形質転換植物はすべて不稔であった。これらの結果から、上記15.6kb断片がRf-1遺伝子を完全に包含していることが示された。さらに、本発明により、Rf-1遺伝子を遺伝子工学的に導入する方法が提供され、その有効性が実証された。

【0041】

本発明者は、λファージクローンXSG16のどの部分がRf-1遺伝子を含むかをさらに特定するために、前述の15.6kb断片（配列番号27の塩基38538-54123を含む）よりも短い断片について相補性試験による種子稔性調査を行った。その結果、XSG16に由来する11.4kb断片（配列番号27の塩基42357-53743を含む）を導入した形質転換体において、種子稔性が回復していることが見出された（実施例10（2））。さらに、より短い6.8kb断片（配列番号27の塩基42132-48883を含む）を導入した形質転換体においても、種子稔性が回復した（実施例10（3））。これらの結果から、上記6.8kb断片がRf-1遺伝子を包含していることが示された。

【0042】

本発明者らは、さらに研究をすすめ、稔性回復機能を有する核酸を特定し、それによってコードされるアミノ酸配列も明らかとなった。具体的には、実施例14-15に記載したように、まず、配列番号27の43733-44038及び48306-50226に相当するDNAをDNA断片をPCRを用いて作成した。これらの2種の断片をプローブ（プローブP及びQ）として、コシヒカリにRf-1を導入した系統より作成したcDNAをライブラリーをスクリーニング

した。その結果、6個のクローンの末端塩基配列がXSG16の配列と一致し、Rf-1遺伝子を含むクローンとして単離され、塩基配列が解析された（配列番号69-74）。

【0043】

配列番号69-74のいずれの配列も、配列番号75のアミノ酸配列1-791を持つタンパク質をコードする。具体的には、各々配列番号69の塩基215-2587、配列番号70の塩基213-2585、配列番号71の塩基218-2590、配列番号72の塩基208-2580、配列番号73の塩基149-2521及び配列番号74の塩基225-2597が、いずれも配列番号75のアミノ酸配列1-791をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号27の塩基43907-46279に対応する。

【0044】

配列番号75のアミノ酸配列を、トウモロコシの稔性回復遺伝子（Rf2）の推定アミノ酸配列（Cui et al., 1996）と比較したところ、N末端の7アミノ酸残基（Met-Ala-Arg-Arg-Ala-Ala-Ser）が一致した。これら7アミノ酸残基はミトコンドリアへの標的化シグナルの一部と考えられている（Liu et al., 2001）。これらのことから、今回単離したcDNAはRf-1遺伝子のコーディング領域を完全に包含すると考えられる。イネRf-1とトウモロコシRf2とのアミノ酸レベルでの相同性は、前述の領域を除いては見られない。

【0045】

また、今回単離したcDNAの配列をIR24のゲノム配列（配列番号27）と比較し、Rf-1遺伝子のエキソンとイントロンの構造を明らかにした（図7）。その結果、植物体内において、スプライシング様式およびポリA付加位置を異にする種々の転写産物が混在していることが示された。Rf-1遺伝子のコード領域内には、イントロンは介在しない。

【0046】

III. Rf-1遺伝子座を含む核酸

本発明は、稔性回復遺伝子（Rf-1）座を含む核酸を提供する。

本発明の稔性回復遺伝子 (Rf-1) 座を含む核酸は、配列番号 27 の塩基配列を有する核酸、又は配列番号 27 の塩基配列と少なくとも 70% 同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸を含む。さらに、実施例 10 に記載したように、配列番号 27 の塩基配列のうち、特に塩基 38538-54123 に Rf-1 遺伝子が完全に含まれていると確認された。Rf-1 遺伝子を含む領域はさらに、好ましくは、配列番号 27 の塩基 38538-54123、より好ましくは、塩基 42357-53743、さらに好ましくは、塩基 42132-48883 と特定された。

【0047】

本発明者らはさらに、研究を進め、Rf-1 遺伝子を含む核酸として以下の領域を特定した。

- a) 配列番号 69 の塩基 215-2587、
- b) 配列番号 70 の塩基 213-2585、
- c) 配列番号 71 の塩基 218-2590、
- d) 配列番号 72 の塩基 208-2580、
- e) 配列番号 73 の塩基 149-2521 及び
- f) 配列番号 74 の塩基 225-2597。

【0048】

上記塩基配列は、g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279 に対応し、そして、いずれも配列番号 75 のアミノ酸配列 1-791 をコードする。

以下、本明細書中、文脈により「配列番号 27 の塩基配列」という用語は、配列番号 27 全体、あるいは、その一部であって稔性回復機能に関与する部分、特に、塩基 38538-54123 を示す。より好ましくは、塩基 42357-53743、さらに好ましくは、塩基 42132-48883 を示す。そして、特に好ましくは、g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279、あるいは、これに対応する、a) 配列番号 69 の塩基 215-2587、b) 配列番号 70 の塩基 213-2585、c) 配列番号 71 の塩基 218-2590、d) 配列番号 72 の塩基 208-2580、e) 配列番号 73 の塩基 149-2521 又は f) 配列番号 74 の塩基 225-2597 のいずれかを示す。

【0049】

後述する実施例では、稔性回復遺伝子 (Rf-1) を含む核酸として、Rf-1 遺伝子を含むインディカ米の IR24 のゲノムライブラリーより核酸が単離され、配列番号 27 の塩基配列が決定された。しかしながら、本発明の、稔性回復遺伝子 (Rf-1) を含む核酸の由来は、Rf-1 遺伝子を有するインディカ型品種由来のものであれば特に限定されない。Rf-1 遺伝子を有するインディカ型品種は、特に限定されず、例えば、IR24、IR8、IR36、IR64、Chinsurah、Boro II が含まれる。Rf-1 遺伝子を有しないジャポニカ型品種としては、例えば、限定されるわけではないが、あそみのり、コシヒカリ、きらら 397、アキヒカリ、あきたこまち、ササニシキ、キヌヒカリ、日本晴、初星、黄金晴、ヒノヒカリ、ミネアサヒ、あいちのかおり、ハツシモ、アケボノ、フジヒカリ、峰の雪もち、ココノエモチ、ふくひびき、どんとこい、五百万石、ハナエチゼン、トドロキワセ、はえぬき、どまんなか、ヤマヒカリ等が知られている。「インディカ型品種」も「ジャポニカ型品種」も当業者に周知であり、当業者はどのようなイネ品種が本発明の対象となり得るか容易に判断できる。

【0050】

本発明の核酸は、一本鎖および二本鎖型両方の DNA と共に、その RNA 相補体も含む。DNA には、例えば、ゲノム DNA (その対応する cDNA も含む)、化学的に合成された DNA、PCR により増幅された DNA、およびそれらの組み合わせが含まれる。

【0051】

本発明の Rf-1 遺伝子を含む核酸は、好ましくは配列番号 27 の塩基配列を有する。1 つ以上のコドンが同一のアミノ酸をコードする場合があります、遺伝暗号の縮重と呼ばれている。このため、配列番号 27 と完全には一致していない DNA 配列が、配列番号 27 と全く同一のアミノ酸配列を有するタンパク質をコードすることがあり得る。こうした変異体 DNA 配列は、サイレント (silent) 突然変異 (例えば、PCR 増幅中に発生する) から生じてよいし、または天然配列の意図的な突然変異誘発の産物であってもよい。

【0052】

本発明の R f - 1 遺伝子は、好ましくは配列番号 75 に記載のアミノ酸配列をコードする。しかしながら、これに限定されることなく、1 またはそれ以上のアミノ酸配列が欠失、付加または置換しているアミノ酸配列を有していてもよい。、稔性回復機能を有する限り、全ての相同タンパク質を含むことが意図される。

「アミノ酸変異」は 1 から複数個、好ましくは、1 ないし 20 個、より好ましくは 1 ないし 10 個、最も好ましくは 1 ないし 5 個である。R f - 1 遺伝子にコードされるアミノ酸配列は、配列番号 75 に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約 70%、好ましくは約 80% 以上、より好ましくは 90% 以上、さらに好ましくは 95% 以上、最も好ましくは 98% 以上の同一性を有する。

【0053】

アミノ酸の同一性パーセントは、視覚的検査及び数学的計算により決定してもよい。あるいは、2つのタンパク質配列の同一性パーセントは、Needleman, S. B. 及び Wunsch, C. D. (J. Mol. Biol., 48: 443-453, 1970) のアルゴリズムに基づき、そしてウィスコンシン大学遺伝学コンピューターグループ (UWGCG) より入手可能な GAP コンピュータープログラムを用い配列情報を比較することにより、決定してもよい。GAP プログラムの好ましいデフォルトパラメーターには: (1) Henikoff, S 及び Henikoff, J. G. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 10915-10919, 1992) に記載されるような、スコアリング・マトリックス、blosum62; (2) 12 のギャップ加重; (3) 4 のギャップ長加重; 及び (4) 末端ギャップに対するペナルティなし、が含まれる。

【0054】

当業者に用いられる、配列比較の他のプログラムもまた、用いてもよい。同一性のパーセントは、例えば Altschul ら (Nucl. Acids. Res. 25., p. 3389-3402, 1997) に記載されている BLAST プログラムを用いて配列情報と比較し決定することが可能である。当該プログラムは、インターネット上で National Center for Biote

chnology Information (NCBI)、あるいはDNA Data Bank of Japan (DDBJ) のウェブサイトから利用することが可能である。BLASTプログラムによる相同性検索の各種条件（パラメーター）は同サイトに詳しく記載されており、一部の設定を適宜変更することが可能であるが、検索は通常デフォルト値を用いて行う。

【0055】

同一の機能を有するタンパク質であっても、由来する品種の相違によって、そのアミノ酸配列に相違が存在しうることが当業者にとって周知の事実である。本発明のRf-1遺伝子は、稔性回復機能を有する限り、配列番号27の塩基配列のこのような相同体、変異体も含みうる。「稔性回復機能を有する」とは、当該DNA断片が導入された場合に、イネ個体又は種子に稔性を付与することを意味する。稔性回復は、Rf-1遺伝子よりタンパク質が発現されることに因ってもよく、あるいはRf-1遺伝子の核酸（DNA又はRNA）自体が稔性の付与に何らかの機能をしていてもよい。

【0056】

限定されるわけではないが、Rf-1遺伝子の相同体、変異体が稔性回復機能を有するか否かは、例えば、以下のように調べることが可能である。MSコシヒカリ（不稔系統）にコシヒカリの花粉をかけることにより得た未熟種子を供試して、Hiei et al (Plant Journal (1994), 6 (2), p. 272-282) の方法に従い、被検定核酸断片を導入する。得られた形質転換体を通常の条件で栽培すると、被検定核酸断片が稔性回復機能を有する場合にのみ、種子が稔る。

【0057】

Rf-1遺伝子を有しないジャポニカ型のあそみのりの対応する領域に由来する核酸は、配列番号28に示した塩基配列を有する。配列番号28と配列番号27の対応する部分は、全体として約98%の同一性を有する。よって、本発明の稔性回復遺伝子（Rf-1）座を含む核酸は、配列番号27と少なくとも約70%、好ましくは約80%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、最も好ましくは98%以上の同一性を有する。「配列番号27」は、

特に好ましくは、g) 配列番号27の塩基43907-46279、あるいは、これに対応する、a) 配列番号69の塩基215-2587、b) 配列番号70の塩基213-2585、c) 配列番号71の塩基218-2590、d) 配列番号72の塩基208-2580、e) 配列番号73の塩基149-2521又はf) 配列番号74の塩基225-2597のいずれかを意図する。

【0058】

核酸の同一性パーセントは、視覚的検査および数学的計算により決定してもよい。あるいは、2つの核酸配列の同一性パーセントは、Devereuxら、*Nucl. Acids Res.*, 12:387 (1984)に記載され、そしてウィスコンシン大学遺伝学コンピューターグループ(UWGCG)より入手可能なGAPコンピュータープログラム、バージョン6.0を用い配列情報を比較することにより、決定してもよい。GAPプログラムの好ましいデフォルトパラメーターには：(1)ヌクレオチドに関する単一(unary)比較マトリックス(同一に対し1および非同値に対し0の値を含む)、およびSchwartzおよびDayhoff監修、*Atlas of Protein Sequence and Structure*, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358 (1979)に記載されるような、GribskovおよびBurgess, *Nucl. Acids Res.* 14:6745 (1986)の加重比較マトリックス；(2)各ギャップに対する3.0のペナルティおよび各ギャップ中の各記号に対しさらに0.10のペナルティ；および(3)末端ギャップに対するペナルティなし、が含まれる。当業者に用いられる、配列比較の他のプログラムもまた、用いてもよい。

【0059】

本発明の核酸はまた、配列番号27の塩基配列に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることが可能であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸、並びに、配列番号27の塩基配列に高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることが可能であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸を含む。

【0060】

本明細書において使用されるように、中程度にストリンジェントな条件は、例えば、DNAの長さに基づき、一般の技術を有する当業者により、容易に決定することが可能である。基本的な条件は、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Vol. 1, pp. 1.101-104, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989)に示されている。例えば、ニトロセルロースフィルターに関し、5XSSC、0.5% SDS、1.0mM EDTA (pH 8.0)の前洗浄溶液、約40℃ないし60℃での、1XSSCないし6XSSC（または約42℃での約50%ホルムアミド中の、例えばスターク溶液 (Stark's solution) などの他の同様のハイブリダイゼーション溶液）のハイブリダイゼーション条件、および約60℃、0.5XSSC、0.1% SDSの洗浄条件の使用が含まれる。また、例えば、ハイブリダイゼーション溶液が約50%ホルムアミドを含む場合、上記ハイブリダイゼーション温度は約15℃ないし20℃低めとなる。非常にストリンジェントな条件もまた、例えばDNAの長さに基づき、当業者により、容易に決定することが可能である。一般に、非常にストリンジェントな条件は、上記中程度にストリンジェントな条件よりも、より高い温度及び／又はより低い塩濃度でのハイブリダイゼーション、及び／又は洗浄条件を含む、例えば、約60℃ないし65℃での0.1XSSCないし0.2XSSCのハイブリダイゼーション条件、および／又は約65℃ないし68℃、0.2XSSC、0.1% SDSの洗浄条件を含む。当業者は温度および洗浄溶液塩濃度は、プローブの長さなどの要因にしたがい、必要に応じ調整してもよいことを認識するであろう。

【0061】

「配列番号27」は、特に好ましくは、g) 配列番号27の塩基43907-46279、あるいは、これに対応する、a) 配列番号69の塩基215-2587、b) 配列番号70の塩基213-2585、c) 配列番号71の塩基218-2590、d) 配列番号72の塩基208-2580、e) 配列番号73の塩基149-2521又はf) 配列番号74の塩基225-2597のいずれかを意図する。

【0062】

同様に、本発明のDNAには、1つまたは複数の塩基の欠失、挿入または置換のため、配列番号27の塩基配列とは異なるが稔性回復機能を有する核酸を含む。稔性回復機能を有する限り、欠失、挿入または置換される塩基の数は特に制限されないが、好ましくは1個ないし数千個、より好ましくは1個ないし千個、さらにこのましくは1個ないし500個、さらにより好ましくは1個ないし200個、最も好ましくは1個ないし100個である。

【0063】

本明細書の記載に基づいてRf-1遺伝子がより特定され、当業者がRf-1遺伝子以外の部分またはRf-1遺伝子内のイントロン部分などの核酸を除いて使用することが可能である。また、既定のアミノ酸（特に配列番号75に記載のアミノ酸配列）を、例えば同様の物理化学的特性を有する残基により置換してもよい。こうした保存的置換の例には、1つの脂肪族残基を互いに、例えばIle、Val、Leu、またはAlaを互いに置換するもの；LysおよびArg、GluおよびAsp、またはGlnおよびAsn間といった、1つの極性残基から別のものへの置換；あるいは芳香族残基の別のものでの置換、例えばPhe、Trp、またはTyrを互いに置換するものが含まれる。他の保存的置換、例えば、同様の疎水性特性を有する領域全体の置換が、周知である。当業者は、周知の遺伝子工学的手法により、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989)等に記載の、例えば部位特異的突然変異誘発法を使用して、所望の欠失、挿入または置換を施すことが可能である。

【0064】

本発明者らは、Rf-1遺伝子を有するインディカ型のIR24（塩基配列27）と、有しないジャポニカ型のあそみのり（塩基配列28）およびGenBankに登録されている日本晴BACクローン（アクセッション番号AC068923）とを比較した。その結果、Rf-1遺伝子を含むインディカ型のRf-1領域は少なくとも、以下の1塩基多型（SNP）を有することを見出した。

【0065】

- 1) 配列番号27の塩基1239に相当する塩基がAである；
- 2) 配列番号27の塩基6227に相当する塩基がAである；
- 3) 配列番号27の塩基20680に相当する塩基がGである；
- 4) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基がAである；
- 5) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基がAである；
- 6) 配列番号27の塩基56368に相当する塩基がTである；
- 7) 配列番号27の塩基57629に相当する塩基がCである；及び
- 8) 配列番号27の塩基66267に相当する塩基がGである。

【0066】

よって、本発明のRf-1領域を含む核酸は、好ましくは上記条件1) - 8)の1つないし全てを満たす。

なお、後述の実施例3において、Rf-1遺伝子極近傍組換え個体(RS1-RS2、RC1-RC8)についてそのRf-1領域の染色体構成を調べた。その結果、配列番号27の塩基1239ないし66267の塩基配列、即ち、最大限に見積もってもP4497 Mb o I座からB56691 Xba I座までの領域(約65 kb)(図3)に、Rf-1遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることが明らかにされた。ただし、Rf-1遺伝子の一部の遺伝子型がインディカ型であることが、Rf-1遺伝子の遺伝子機能発現に重要であり、残りの部分はジャポニカ型でもインディカ型でも遺伝子機能に大きな差異を生じない可能性がある。極端な場合、ジャポニカ・インディカ間でコーディング領域は完全に同一で、プロモーター領域だけに差があり、そして、プロモーター領域及びコーディング領域の一部のみが上記P4497 Mb o I座からB56691

Xba I座までの領域(約65 kb)に含まれることもあり得る。よって、上記共有インディカ型領域(配列番号27の塩基1239ないし66267)がRf-1遺伝子全体を完全に包含するとは、断定できない。しかしながら、以下の理由、

- 1) 遺伝子の大きさは通常数kbであり10kbを超えることは稀である；
- 2) 本発明で明らかにしたIR24のゲノム塩基配列(配列番号27)は、

上記共有インディカ型領域を完全に包含する；

3) 配列番号27の5'末端は、上記共有インディカ型領域の5'末端から1238bp上流に位置し、別の遺伝子(S12564)の一部である；および

4) 配列番号27の3'末端は、上記共有インディカ型領域の3'末端から10096bp下流に位置する

により、少なくとも配列番号27はRf-1遺伝子全体を完全に包含すると考えられる。

【0067】

このように、本発明者らは、まずRf-1遺伝子領域を76kbまで絞り込むことに成功した。よって、本発明のRf-1遺伝子領域を含む核酸は、従来技術の特開2000-139465に記載のRf-1遺伝子からの遺伝子距離が約1cM(約300kb)ある共優性マーカー座を用いて選抜した場合よりも、Rf-1遺伝子の近傍に存在する他の遺伝子を含む可能性が格段に低い。さらに、本発明者らの先の特願2000-247204に記載のDNAマーカー座S12564 Tsp509IとC1361 MwoI座(両遺伝子座の距離は約0.3cM)を用いて選抜した場合よりも他の遺伝子を含む可能性が低い。

【0068】

さらに、本発明者らは相補性試験を行うことにより、配列番号27の塩基配列のうち、特に塩基38538-54123にRf-1遺伝子が完全に含まれていることを確認した。よって、本発明の一態様において、配列番号27の塩基配列又は配列番号27の塩基38538-54123の塩基配列と、少なくとも70%同一の塩基配列は、以下の条件1)及び2)の少なくとも一つを満たす：

- 1) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基がAである；及び
- 2) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基がAである。

【0069】

本発明者らはさらに、Rf-1遺伝子を含む核酸として以下の領域を特定した。

- a) 配列番号69の塩基215-2587、
- b) 配列番号70の塩基213-2585、

- c) 配列番号 71 の塩基 218-2590、
- d) 配列番号 72 の塩基 208-2580、
- e) 配列番号 73 の塩基 149-2521 及び
- f) 配列番号 74 の塩基 225-2597。

【0070】

上記塩基配列は、g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279 に対応する。
本発明の核酸はさらに、

h) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

i) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

j) 上記 a) - g) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

を含む。

【0071】

上記の配列番号 27 の塩基 45461 は、1) 配列番号 69 の塩基 1769；
2) 配列番号 70 の塩基 1767；3) 配列番号 71 の塩基 1772；4) 配列番号 72 の塩基 1762；5) 配列番号 73 の塩基 1703；及び 6) 配列番号 74 の塩基 1779、に相当する。よって、特に好ましくは、本発明の方法に使用する核酸は、好ましくは、以下の条件 1) - 6) の少なくとも一つを満たす：

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である；
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である；
- 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である；
- 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である；又は
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である。

【0072】

I V. イネの稔性の回復方法

本発明は、配列番号 27 の塩基配列を有する核酸、又は配列番号 27 の塩基配

列と少なくとも70%同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する方法を提供する。本発明の方法はまた、配列番号27の一部、特に、配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883の塩基配列を有する核酸、又は配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883の塩基配列と少なくとも70%同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入してもよい。

【0073】

本発明の方法は特に好ましくは、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入する。最も好ましくは、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸は、以下のa) - j) の核酸から選択される：

- a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；
- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
- f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
- g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
- h) 上記a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも70%同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
- i) 上記a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のスリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び
- j) 上記a) - g) のいずれかの核酸に1ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

【0074】

本発明において、イネに導入されうる稔性回復遺伝子（Rf-1）座を含む核酸は、先の「III. Rf-1 遺伝子座を含む核酸」において記載の核酸を使用しうる。核酸のイネへの導入方法は特に限定されず、公知の方法を使用することが可能である。本発明の核酸は公知の遺伝子工学的な方法によって導入しても、あるいは交配によっても導入してもよい。隣接する他の遺伝子の導入を防げる、育種年限を短縮できる、という観点より遺伝子工学的な方法の使用が好ましい。

【0075】

遺伝子工学的手法による形質導入のためにはいかなる適切な発現系を使用してもよい。組換え発現ベクターは、適切な転写または翻訳制御ヌクレオチド配列、例えば、哺乳動物、微生物、ウイルス、または昆虫遺伝子由来のものなどに、機能可能であるように連結されている、本発明のイネに導入されうる稔性回復遺伝子（Rf-1）を含む核酸を含む。

【0076】

制御配列の例には、転写プロモーター、オペレーター、またはエンハンサー、mRNAリボソーム結合部位、並びに転写および翻訳開始および終結を調節する適切な配列が含まれる。ヌクレオチド配列は、制御配列が該DNA配列に機能的に関連しているとき、機能可能であるように連結されている。したがって、プロモーターヌクレオチド配列は、該プロモーターヌクレオチド配列がDNA配列の転写を調節するならば、DNA配列に、機能可能であるように連結されている。イネにおいて複製する能力を与える複製起点、および形質転換体を同定する選択遺伝子が、一般的に発現ベクターに取り込まれている。選択マーカーとしては、通常使用されるものを常法により用いることができる。例えばテトラサイクリン、アンピシリン、またはカナマイシンもしくはネオマイシン、ハイグロマイシンまたはスペクチノマイシン等の抗生物質耐性遺伝子などが例示される。

【0077】

さらに、必要に応じて適切なシグナルペプチド（天然または異種性）をコードする配列を、発現ベクターに取り込んでもよい。シグナルペプチド（分泌リーダー）のDNA配列を、インフレームで本発明の核酸配列に融合させ、DNAがまず転写され、そしてmRNAがシグナルペプチドを含む融合タンパク質に翻訳さ

れるようにしてもよい

本発明によればまた、本発明の遺伝子を含む組換えベクターが提供される。プラスミドなどのベクターに本発明の遺伝子のDNA断片を組み込む方法としては、例えば、Sambrook, J. ら, Molecular Cloning, A Laboratory Manual (2nd edition), Cold Spring Harbor Laboratory, 1.53 (1989) に記載の方法などが挙げられる。簡便には、市販のライゲーションキット（例えば、宝酒造製等）を用いることもできる。このようにして得られる組換えベクター（例えば、組換えプラスミド）は、宿主細胞であるイネに導入される。

【0078】

ベクターは、簡便には当業界において入手可能な組換え用ベクター（例えば、プラスミドDNAなど）に所望の遺伝子を常法により連結することによって調製することができる。本願発明の核酸断片を用いてイネに稔性を付与する場合には、特に、植物形質転換用ベクターが有用である。植物用ベクターとしては、植物細胞中で当該遺伝子を発現し、当該タンパク質を生産する能力を有するものであれば特に限定されないが、例えば、pBI221、pBI121（以上Clontech社製）、及びこれらから派生したベクターが挙げられる。また、特に単子葉植物たるイネの形質転換には、pIG121Hm、pTOK233（以上Hiei ら, Plant J., 6, 271-282 (1994)）、pSB424（Komari ら, Plant J., 10, 165-174 (1996)）などが例示される。

【0079】

形質転換植物は、上述のベクターの β -グルクロニダーゼ（GUS）遺伝子の部位に本願発明の核酸断片を入れ替えて植物形質転換用ベクターを構築し、これを植物に導入することで調整することができる。植物形質転換用ベクターは、少なくともプロモーター、翻訳開始コドン、所望の遺伝子（本願発明の核酸配列またはその一部）、翻訳終始コドンおよびターミネーターを含んでいることが好ましい。また、シグナルペプチドをコードするDNA、エンハンサー配列、所望の遺伝子の5'側および3'側の非翻訳領域、選抜マーカー領域などを適宜含んで

いてもよい。プロモーター、ターミネーターは植物細胞で機能するものであれば特に限定されないが、構成的発現をするプロモーターとしては、上記ベクターに予め組み込まれている35Sプロモーターの他に、アクチン、ユビキチン遺伝子のプロモーターなどが例示される。

【0080】

プラスミドを宿主細胞に導入する方法としては、一般に、Sambrook, J. ら, Molecular Cloning, A Laboratory Manual (2nd edition), Cold Spring Harbor Laboratory, 1. 74 (1989) に記載のリン酸カルシウム法または塩化カルシウム/塩化ルビジウム法、エレクトロポレーション法、エレクトロインジェクション法、PEGなどの化学的な処理による方法、遺伝子銃などを用いる方法などが挙げられる。植物細胞の場合は、例えばリーフディスク法 [Science, 227, 129 (1985)]、エレクトロポレーション法 [Nature, 319, 791 (1986)] によって形質転換することができる。

【0081】

特に植物への遺伝子導入法としては、アグロバクテリウムを用いる方法 (Horsch et al., Science, 227, 129 (1985)、Hiei et al., Plant J., 6, 271-282 (1994))、エレクトロポレーション法 (Fromm et al., Nature, 319, 791 (1986))、PEG法 (Paszkowski et al., EMBO J., 3, 2717 (1984))、マイクロインジェクション法 (Crossway et al., Mol. Gen. Genet., 202, 179 (1986))、微小物衝突法 (McCabe et al., Bio/Technology, 6, 923 (1988)) などが挙げられる。所望の植物に核酸を導入する方法であれば特に限定されない。

【0082】

一方、交配による導入の場合には、例えば、以下のようにして行うことが可能である。まず、Rf-1 供与親とジャポニカ品種とを交雑して得られた F_1 に、

ジャポニカ品種を戻し交雑する。得られた個体のなかから、S12564 Ts p509 I座がジャポニカ型ホモ、P4497 Mb o I座及びB53627 B s t Z17 I座がヘテロの個体を選別し、さらなる戻し交雑に供試する。得られた個体のなかから、P4497 Mb o I座及びB56691 X b a I座がヘテロ、B53627 B s t Z17 I座がジャポニカ型ホモの個体を選別し、さらなる戻し交雑に供試する。以後は、戻し交雑各世代で、P4497 Mb o I座及びB56691 X b a I座がヘテロの個体を選別し、次の戻し交雑に供試する、という工程を10回程度繰り返す。最後に、P4497 Mb o I座及びB56691 X b a I座がヘテロの個体を自殖させ、得られた個体から両座がインディカ型ホモの個体を選別することにより、P4497 Mb o I座からB56691 X b a I座までの限定された染色体領域をRf-1 供与親から引き継ぐ回復系統を得ることができる。

【0083】

本発明において、稔性回復遺伝子(Rf-1)を含む核酸が単離されたことにより、Rf-1 遺伝子を遺伝子工学の技術を用いてイネ品種に導入し、回復系統を育成することが可能となった。本発明ではRf-1 領域を先ず76kb以下にまで絞り込むことに成功した。よって本発明のRf-1 遺伝子座を含む核酸は、従来技術と比較して、Rf-1 遺伝子の近傍に存在する他の遺伝子を含む可能性が格段に低い。さらに、本発明はRf-1 遺伝子を含む領域の全塩基配列を明らかにした。当業者は、本明細書の記載に基づきRf-1 遺伝子自体の解析することが進めることができる。よって、隣接する遺伝子を全く含まずにRf-1 遺伝子のみを導入することも可能となった。これは、隣接遺伝子が劣悪形質をもたらす遺伝子である場合に特に重要である。さらに、交雑の場合より早く、1~2年の短期間での回復系統を育成も可能となった。

【0084】

そして、本明細書中の実施例4-13に記載の相補性試験では実際に、図5に記載の10個のクローン由来の断片を用い、アグロバクテリウムを用いる方法によりMSコシヒカリ(BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一)を形質転換した。その結果、配列番号27の塩基38538-54123、好まし

くは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883の塩基配列を含む核酸によって、稔性回復系統が育成されることが証明された。

【0085】

限定されるわけではないが、アグロバクテリウムを用いるイネの回復系統の作成方法は、例えば、Hiei et al., Plant J., 6, p. 271-282 (1994)、Komari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996)、Ditta et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: p. 7347-7351 (1980) 等に記載されている。

【0086】

先ず、所期の挿入したい核酸断片を含むプラスミドベクターを作成する。プラスミドベクターは、例えば、前記Komari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996) らにプラスミドマップが記載されている、pSB11、pSB22等が使用可能である。あるいは、当業者は例えば前記pSB11、pSB22等のプラスミドベクターを基に、自ら適当なベクターを構築する事も可能である。本明細書後述する実施例では、pSB11を基に、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクターpSB200を作成して使用した。具体的には、先ず、ユビキチンプロモーターとユビキチンイントロン (Pubi-ubi I) に、ノパリン合成酵素のターミネーター (Tnos) を接続した。これより得られたPubi-ubi I-Tnos接続体のubi I-Tnos間に、ハイグロマイシン耐性遺伝子 (HYG (R)) を挿入することにより、Pubi-ubi I-HYG (R)-Tnosからなる接続体を得た。この接続体を、pSB11 (Komariら、上述) のHind III/EcoRI断片に接続することにより、pKY205を得た。このpKY205のPubi上流に存在するHind III部位にNot I、Nsp V、EcoRV、Kpn I、Sac I、EcoRIの制限酵素部位を追加するためのリンカー配列を挿入することにより、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを有するpSB200を得た。

【0087】

次いで、挿入核酸を含む組換えベクターを用いて大腸菌（例えばDH5 α 、JM109、MV1184等、いずれも例えばTAKARA社より購入可能）を形質転換する。

【0088】

さらに、形質転換された大腸菌を用いて、アグロバクテリウム菌株を好ましくはヘルパー大腸菌株とともに、例えば、Ditt et al (1980)の方法に従い、三菌系交雑 (triparential mating) を行う。限定されるわけではないが、アグロバクテリウムは例えば、Agrobacterium tumefaciens 菌株LBA4404/pSB1、LBA4404/pNB1、LBA4404/pSB3等を使用することが可能である。いずれも前述のKomari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996) にプラスミドマップが記載されており、当業者は例えば自らベクター構築を行うことにより使用可能である。限定されるわけではないが、ヘルパー大腸菌は、例えばHB101/pRK2013 (クローンテック社より入手可能) 等が使用可能である。また、より一般的ではないがpRK2073を保有する大腸菌もヘルパー大腸菌として使用可能との報告がある (Lemas et al., Plasmid 1992, 27, p. 161-163)。

【0089】

次いで、所期の交配が生じたアグロバクテリウムを用いて、例えば、Hiei et al (1994)の方法に準拠し、雄性不稔イネの形質転換を行う。形質転換に必要なイネ未熟種子は、例えば、雄性不稔イネにジャポニカ品種の花粉をかけることにより作成できる。

【0090】

形質転換植物の稔性回復は、例えば出穂約1か月後に、種子稔性を立毛調査することによって調べることが可能である。立毛調査とは、圃場などで栽培されている状態で観察する方法である。あるいは、実験室で穂の稔実率を調べる稔実率調査を行ってもよい。

【0091】

V. Rf-1 遺伝子の存在の有無の識別方法

本発明において Rf-1 遺伝子の機能の有無を決定する配列が、イネ第10染色体上の約 65 kb の多型検出用マーカー座 P4497 MboI と B56691 XbaI の間に存在することが明らかにされた。さらに、相補性試験により、配列番号 27 の塩基配列のうち、特に塩基 38538-54123 に Rf-1 遺伝子が完全に含まれていることが確認された。

【0092】

また、Rf-1 遺伝子を有するインディカ型品種 (IR24) (配列番号 27) と当該遺伝子を有しないジャポニカ型品種 (あそみのり (配列番号 28) および日本晴 BAC クローン AC068923) の塩基配列を比較し、両者に複数の多型 (polymorphism) が存在することが明らかになった。その結果、Rf-1 遺伝子近傍領域における塩基配列の多型を利用することにより、被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子を有するか否かを、簡便、迅速かつ正確に識別することが可能となった。

【0093】

よって、本発明はまた、Rf-1 遺伝子の機能の有無を決定する配列がイネ第10染色体上の多型検出用マーカー座 P4497 MboI と B56691 XbaI の間に存在することを利用して、被検定イネ個体又は種子が Rf-1 遺伝子を有するか否かを識別する方法を提供する。

【0094】

多型の検出は公知の任意の方法を使用して行うことが可能である。例えば、制限酵素断片長の多型 (restriction fragment length polymorphism; RFLP) を調べる方法、塩基配列の決定により直接的に決定する方法、ゲノム DNA を 8 塩基認識制限酵素で切断後、末端を放射能標識し、さらに、6 塩基および 4 塩基認識制限酵素で切断し、2次元電気泳動で展開する方法 (RLGS法、Restriction Landmark Genome Scanning) 等が知られている。さらに、RFLP をポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) によって増幅・検出する AFLP (amplif

ied fragment length polymorphism; P. Vos, ら、Nucleic Acids Res. Vol. 23, p. 4407-4414 (1995)) 分析も開発されている。

【0095】

例えば、従来より以下に例示するようなRFLPをPCR増幅を用いて検出する方法(RFLPマーカーのPCRマーカー化)、マイクロサテライトの多型をPCR増幅を用いて検出する方法(マイクロサテライトマーカー)が採用されてきた。

【0096】

RFLPマーカーのPCRマーカー化

A. RFLPプローブ対応ゲノム領域の多型を利用してPCRマーカー化する方法(D. E. Harry, B. Temesgen, D. B. Neale; Codominant PCR-based markers for Pinus taeda developed from mapped cDNA clones, Theor. Appl. Genet. (1998) 97: p. 327-336)。これは、RFLPマーカープローブ配列(「RFLP」は、あるDNA断片をプローブに用いてサザン解析を行った場合に観察される多型である。プローブに用いたDNA断片の塩基配列を「RFLPマーカープローブ配列」と呼ぶ。)に対して設計したプライマーを用いてゲノムPCRを行った後、次の二方法のいずれかによりPCRマーカー化できる。第1は、産物を一連の制限酵素で処理し、断片長多型を生じる制限酵素を探索する手法であり、第2は、産物の塩基配列を品種間比較して多型を探索し、その多型を利用してPCRマーカー化する方法である。

【0097】

B. RFLP原因部位を同定してPCRマーカー化する方法。これは、RFLPマーカープローブ配列内あるいはその周辺(通常数kb以内)に存在するRFLP原因部位(比較する2品種の一方のみが持つ制限酵素認識部位)を同定することにより、PCRマーカー化する方法である。

【0098】

マイクロサテライトマーカー

マイクロサテライトとは、 $(CA)_n$ のような2ないし4塩基程度の繰り返し配列であり、ゲノム中に多数存在している。繰り返し数に品種間多型がある場合、隣接領域に設計したプライマーを用いてPCRを行うと、PCR産物長に多型が観察され、DNA多型を検出することが可能となる。マイクロサテライトを利用した多型検出マーカーは、マイクロサテライトマーカーと呼ばれている (O. Parnaud, X. Chen, S. R. McCouch, , Mol. Gen. Genet. (1996) 252: p. 597-607)。

【0099】

本発明において多型の検出方法は特に限定されない。効率、簡便性の観点より、PCRとRFLPを組み合わせて、比較する品種系統間において、PCRにより増幅したDNA断片配列中の制限酵素認識部位に多型が存在する場合に、その制限酵素による切断パターンからいずれの型であるかを決定するPCR-RFLP法が好ましい。PCR-RFLP法は、CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) 法とも呼ばれる。多型が見出される部位に適当な制限酵素認識部位が存在しない場合、PCRの際に制限酵素部位を導入するCAPSの修飾法、dCAPS (derived cleaved amplified polymorphic sequence) も使用可能である (Michaels, S. D. and Amasino, R. M. (1998), The Plant Journal 14 (3) 381-385; A. Konieczny, (1993), Plant J. 4 (2) p. 403-410; Neff, M. M., Neff, J. D., Chory, J. and Pepper, A. E. (1998), The Plant Journal 14 (3) 387-392)。以下、より詳細に説明する。

【0100】

CAPS法、dCAPS法

限定されるわけではないが、本発明の識別方法では

i) Rf-1 遺伝子座において、インディカ品種とジャポニカ品種の塩基配列

において多型が見出される部位およびその隣接領域の塩基配列に基づいて、当該塩基配列を増幅するようにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノムDNAを鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて、被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子を有するか否かを判断する。

【0101】

工程i)におけるプライマー対の作成は、好ましくは

a) 前記核酸増幅産物の多型中に欠失領域を有する型が存在する場合、当該欠失領域の両側に欠失領域を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカースとする；

b) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する場合、当該塩基置換部位の両側に置換部位を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカースとする；または

c) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じない塩基置換が存在する場合、当該塩基置換部位を含み、そして、当該塩基置換部位を含む領域を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更するようなミスマッチ導入用プライマー対を作成し、多型検出用マーカースとする；

のいずれかの手段を含む。

【0102】

限定されるわけではないが、本発明において、Rf-1遺伝子の存在を識別するために利用可能な適当な多型部位は、例えば、Rf-1遺伝子を有するインディカ型品種（IR24）（配列番号27）と当該遺伝子を有しないジャポニカ型品種（あそみのり（配列番号28）およびBACクローンAC068923）の塩基配列を比較し、以下のように多型検出用マーカースの作成が可能となるように、適宜選択することができる。

【0103】

例えば、見出された多型が制限酵素認識部位に差異を生じる場合、当該多型部位の両側に多型部位を挟むように核酸増幅プライマーを作成し、多型検出用に用

いる。プライマーを設計する際は、不要な産物を避けるために、反復性の高い配列に対して設計しない方が好ましい。見出された多型が制限酵素認識に差異を生じない場合、記述の dCAPS 法を適用することにより、マーカーを作成することができる。dCAPS マーカーのプライマーを設計する際は、反復配列に対して設計しない方が好ましいことに加え、多型を識別しやすするため産物長が、好ましくは 50-300 塩基、より好ましくは 100 塩基程度となるようにするとよい。

【0104】

見出された多型がマイクロサテライトに関するものであれば、当該マイクロサテライトを挟むように核酸増幅用プライマーを作成し、多型検出用に用いる。この場合も、反復配列に対してプライマーを設計しない方が好ましい。

【0105】

1) 核酸増幅

本発明では、好ましくは、解明された被検定イネ個体又は種子の Rf-1 遺伝視座の核酸配列の塩基配列に基づいて、多型を含む隣接領域を増幅するようにプライマー対を作成する。当該プライマーを使用して、被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型に核酸増幅反応を行う。核酸増幅反応は好ましくは、複製連鎖反応 (PCR) (サイキら、1985, Science 230, p. 1350-1354) である。

【0106】

核酸増幅のためのプライマー対は、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に基づき公知の方法により作成することが可能である。具体的には、限定されるわけではないが、例えば、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に基づき、以下の条件：

- 1) 各プライマーの長さが 15-30 塩基であること；
- 2) 各プライマーの塩基配列中の G+C の割合が 30-70% であること；
- 3) 各プライマーの塩基配列中の A、T、G および C の分布が部分的に大きく偏らないこと；
- 4) プライマー対によって増幅される核酸増幅産物の長さが 50-3000

塩基、好ましくは 50-300 塩基であること；そして

5) 各プライマー自身の塩基配列中、又はプライマー同士の塩基配列間に相補的な配列部分が存在しないこと

を満たすように、多型部位およびその隣接領域の塩基配列と同じ塩基配列若しくは上記領域に相補的な塩基配列を有する一本鎖 DNA を製造し、または、必要であれば多型部位およびその隣接領域の塩基配列に対する結合特異性を失わないように修飾した上記一本鎖 DNA を製造する

ことを含む方法により、プライマー対を作成できる。

【0107】

本発明において増幅される、多型部位の「隣接領域」とは、多型とその隣接領域の双方を含む領域が、好ましくは、PCR 法等の核酸増幅が可能な距離の範囲内にあることを意味する。限定されるわけではないが、好ましくは増幅される隣接領域が約 50 塩基ないし約 3000 塩基、より好ましくは約 50 塩基ないし約 2000 塩基の範囲内にある。多型を識別しやすするためは、産物長が好ましくは 50-300 塩基、より好ましくは 100 塩基程度となるようにするとよい。限定されるわけではないが、隣接領域は、多型部位の 5' 側または 3' 側に好ましくは約 0 塩基ないし約 3000 塩基、より好ましくは約 0 塩基ないし約 2000 塩基、より好ましくは約 0 塩基ないし約 1000 塩基の範囲内にある。

【0108】

核酸増幅反応の手順及び条件は特に限定されず、当業者に周知である。当業者は、多型部位およびその隣接領域の塩基配列、プライマー対の塩基配列および長さ等の種々の要因に応じて適宜、条件を採用することが可能である。一般には、プライマー対の長さが長い程、G+C の割合が高いほど、A、T、G および C の分布の偏りが小さい程よりストリンジントな条件（より高温でのアニーリング反応および核酸伸長反応、より少ないサイクル数）で核酸増幅反応を行うことが可能である。よりストリンジントな条件の採用により、特異性の高い増幅反応が可能となる。

【0109】

増幅反応は、限定されるわけではないが、例えば、鋳型として使用するゲノム

DNA 50 ng、dNTP各200 μ M、Ex TaqTM (TAKARA) 5Uを使用し、例えば、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サイクルとして30サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うことができる。あるいは、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて1分を1サイクルとして30サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うこともできる。あるいは、別の態様においては、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとして35サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うこともできる。

【0110】

PCRの鋳型として使用する被検定イネゲノムのDNAは、Edwardsら (Nucleic Acids Res. 8 (6) : 1349, 1991) の方法で、個体又は種子より簡易に抽出することができる。より好ましくは、標準的な方法により精製したDNAを用いるのがよい。CTAB法 (Murray M. G., et al., Nucleic Acids Res. 8 (19) : 4321-5, 1980) は、特に好ましい抽出法である。PCRを行うための鋳型として使用するDNAの濃度は、終濃度で0.5 ng/ μ l が好ましい。

【0111】

2) 多型検出用マーカーの作成

上記プライマー対を用いた核酸増幅反応により、増幅産物に多型が検出されるか否かを調査し、見出された多型に基づいて多型検出用マーカーを作成する。限定されるわけではないが、増幅産物に検出されうる多型としては以下のようなものがある。

【0112】

a) 前記核酸増幅産物の多型中に欠失領域を有する型が存在する場合

このような場合、欠失領域の両側に欠失領域を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。欠失領域の大きさが十分な場合、例

例えば増幅産物をアガロースゲル電気泳動又はアクリルアミドゲル電気泳動等することにより、泳動度の差により多型の検出が可能である。例えば、アガロースゲル電気泳動の場合には塩基対数に約5%以上の差がある場合、シーケンス用アクリルアミドゲル電気泳動の場合には約1塩基以上長さに差がある場合検出可能である。または、欠失領域外の塩基配列に相補的な配列を有するオリゴヌクレオチド若しくはDNA断片を解析用プローブとして、核酸増幅産物に対してハイブリダイゼーションを行うことにより、多型を検出することができる。あるいは、必要に応じ、増幅産物の塩基配列を決定して多型を確認してもよい。核酸の電気泳動、ハイブリダイゼーション、塩基配列の決定等は公知の方法を使用でき、当業者は適宜採用可能である。このような場合は、増幅産物の長さの相違が直接多型を生じるので、これを利用した多型検出用マーカーをALP (amplicon length polymorphism) マーカーと言う。

【0113】

b) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する場合

このような場合、当該塩基置換部位の両側に置換部位を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。このような場合、核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する、即ち、核酸増幅産物中に、特定の1または複数の制限酵素で切断されるものとされないものが存在する。よって、得られた増幅産物を制限酵素処理し、例えばアガロースゲル等で電気泳動し、泳動度の差により多型を検出することが可能である。必要に応じ、増幅産物の塩基配列を決定して多型を確認してもよい。

【0114】

このような場合、PCR等による増幅産物の制限酵素断片の長さの相違が多型を生じるので、これを利用した多型検出用マーカーをCAPSマーカーまたはPCR-RFLPマーカーという (A. Koniecznyら, 上述)。

【0115】

後述する実施例1のプライマー対 P4497 MboI、P23945 MboI、P41030 TaqI、P45177 BstUI、B59066 B

s a J I 及び B 5 6 6 9 1 X b a I がこのような場合に相当する。なお、前記 a) の核酸増幅産物の長さで多型を検出可能な場合であっても制限酵素処理を併用することにより、多型がより検出しやすくなる場合がある。

【0116】

c) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じない塩基置換が存在する場合

このような場合、当該塩基置換部位を含み、そして、当該塩基置換部位を含む領域を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更するようなミスマッチ導入プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。

【0117】

具体的には、天然の R f - 1 遺伝子近傍領域の塩基配列に基づくプライマー対では核酸増幅産物に多型を生じるが制限酵素認識に差異を生じないため、片方のまたは双方のプライマーにミスマッチを導入し、当該塩基置換部位（多型）を含む領域を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更する。例えば、PCR法を用いた部位特異的変異の導入による特定ヌクレオチドの置換、欠失又は付加の一般的な技術は、例えば M i k a e l i a n ら、N u c l . A c i d s . R e s . 20 : 376. 1992 に記載された方法を用いることができる。上記ミスマッチ導入プライマーを多型検出用マーカーとして用いた増幅産物では、ミスマッチ導入部位において制限酵素認識に差異を有するため、核酸増幅産物中に、特定の 1 または複数の制限酵素で切断されるものとされないものが存在する。よって、上述の b) の場合と同様に得られた増幅産物を制限酵素処理し、例えばアガロースゲル等で電気泳動し、泳動度の差により多型を検出することが可能である。

【0118】

ミスマッチの導入は、プライマーの標的植物ゲノムへの結合性を失わせず、また、多型を生じている塩基置換を変化させるものであってもならない。多型を生じている塩基置換を利用してその近傍にミスマッチを導入して、塩基置換とミスマッチの双方の組み合わせにより制限酵素認識に差異が生じるようにする。このようなミスマッチの導入法は当業者に公知であり、例えば、M i c h a e l s ,

S. D. and Amasino, R. M. (1998)、Neff, M. M. , Neff, J. D. , Chory, J. and Pepper, A. E. (1998) 等に詳述されている。

【0119】

このような場合のマーカ―は、前述のb) のCAPSマーカ―の改良であり、dCAPS (derived CAPS) マーカ―という。後述する実施例3のP9493 Bsl Iがこのような場合に相当する。

【0120】

なお、上記のb) またはc) の場合において、品種間の多型とは無関係の余分な制限酵素部位が多く存在すると、多型に基づく制限酵素部位認識の相違が識別しにくくなる場合がある。このような場合、必要に応じプライマーにミスマッチを導入し、不必要な制限酵素部位をつぶしてもよい。例えば、実施例3のB60304 Msp Iでは、Rプライマーにミスマッチを導入して多型と無関係なMsp I部位をつぶしている。

【0121】

限定されるわけではないが、CAPS法又はdCAPS法は、他のRFLP法等と比較していくつかの利点を有する。具体的には、例えば、RFLP法と比較して、少量のサンプルで分析できる。分析に要する時間および労力を大きく軽減できる、といった利点がある。マイクロサテライトマーカ―と比較しても、作成したPCRマーカ―の多型検出がアクリルアミド電気泳動よりも容易なアガロースゲル電気泳動で行えるという利点がある。

【0122】

本発明の識別方法の好ましい実施態様

以下、例示のために本発明の被検定イネがRf-1遺伝子を有するか否かを識別する方法の好ましい態様を記載する。本明細書の実施例においてRf-1遺伝子を有するインディカ型品種IR24の塩基配列（配列番号27）において、ジャポニカ型品種の対応する領域と比較した結果、少なくとも以下の1) - 8) の多型を有することを見出した。

【0123】

- 1) 配列番号 2 7 の塩基 1 2 3 9 に相当する塩基が A である ;
- 2) 配列番号 2 7 の塩基 6 2 2 7 に相当する塩基が A である ;
- 3) 配列番号 2 7 の塩基 2 0 6 8 0 に相当する塩基が G である ;
- 4) 配列番号 2 7 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基が A である ;
- 5) 配列番号 2 7 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基が A である ;
- 6) 配列番号 2 7 の塩基 5 6 3 6 8 に相当する塩基が T である ;
- 7) 配列番号 2 7 の塩基 5 7 6 2 9 に相当する塩基が C である ; 及び
- 8) 配列番号 2 7 の塩基 6 6 2 6 7 に相当する塩基が G である。

【 0 1 2 4 】

よって、本発明の好ましい実施態様において、上記 1) - 8) の条件のいずれか 1 つないし全部を満たす場合に、被検定イネの個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する。

【 0 1 2 5 】

さらに、本発明者らは配列番号 2 7 の塩基配列のうち、特に塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3、好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、より好ましくは、塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3 に R f - 1 遺伝子の機能発現に必須の領域が含まれていることを確認した。よって、本発明の一態様において、配列番号 2 7 の塩基配列又は配列番号 2 7 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 の塩基配列と、少なくとも 7 0 % 同一の塩基配列が、以下の条件 1) 及び 2) の少なくとも一つを満たす場合に、被検定イネの個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する :

- 1) 配列番号 2 7 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基が A である ; 及び
- 2) 配列番号 2 7 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基が A である。

【 0 1 2 6 】

上記の条件を満たすか否かは、公知の多型の検出方法を使用することが可能である。上記配列を含む隣接領域の塩基配列を直接決定してもよい。しかしながら、迅速性、簡便性の観点より、上述した CAPS 法又は dCAPS 法を採用することが好ましい。CAPS 法又は dCAPS 法は、例えば以下のように行うことが可能である。

【 0 1 2 7 】

i) 以下のいずれかの塩基、

- 1) 配列番号 27 の塩基 1 2 3 9 に相当する塩基；
- 2) 配列番号 27 の塩基 6 2 2 7 に相当する塩基；
- 3) 配列番号 27 の塩基 2 0 6 8 0 に相当する塩基；
- 4) 配列番号 27 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基；
- 5) 配列番号 27 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基；
- 6) 配列番号 27 の塩基 5 6 3 6 8 に相当する塩基；
- 7) 配列番号 27 の塩基 5 7 6 2 9 に相当する塩基；及び
- 8) 配列番号 27 の塩基 6 6 2 6 7 に相当する塩基

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するようにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子の有無を識別する。

【0128】

核酸増幅反応産物の多型の検出は、限定されるわけではないが、例えば以下の 1) - 8) の 1 つないし全てを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する、ことにより行う。

【0129】

1) 配列番号 27 の塩基 1 2 3 9 に相当する塩基を含む領域が、M b o I 認識配列を有しない；

2) 配列番号 27 の塩基 6 2 2 7 に相当する塩基を含む領域が、B s l I 認識配列を有しない；

3) 配列番号 27 の塩基 2 0 6 8 0 に相当する塩基を含む領域が、M b o I 認識配列を有する；

4) 配列番号 27 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；

5) 配列番号 27 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基を含む領域が、B s t U

I 認識配列を有しない；

6) 配列番号 27 の塩基 56368 に相当する塩基を含む領域が、M s p I 認識配列を有しない；

7) 配列番号 27 の塩基 57629 に相当する塩基を含む領域が、B s a J I 認識配列を有しない；及び

8) 配列番号 27 の塩基 66267 に相当する塩基を含む領域が、X b a I 認識配列を有しない。

【0130】

ただし、上記 1) - 8) の領域の各多型を検出可能な制限酵素であれば、上記に限定されるものではない。

本発明の識別方法は、好ましくは、

i) 以下のいずれかの塩基、

1) 配列番号 27 の塩基 45461 に相当する塩基；又は

2) 配列番号 27 の塩基 49609 に相当する塩基；

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するようにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子の有無を識別する。限定されるわけではないが、工程 i i i) が、以下の条件 1) 及び 2) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する：

1) 配列番号 27 の塩基 45461 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない；及び

2) 配列番号 27 の塩基 49609 に相当する塩基を含む領域が、B s t U I 認識配列を有しない。

【0131】

上記の配列番号 27 の塩基 45461 は、1) 配列番号 69 の塩基 1769；
2) 配列番号 70 の塩基 1767；3) 配列番号 71 の塩基 1772；4) 配列

番号 7 2 の塩基 1 7 6 2 ; 5) 配列番号 7 3 の塩基 1 7 0 3 ; 及び 6) 配列番号 7 4 の塩基 1 7 7 9、に相当する。

【0 1 3 2】

増幅反応に使用するプライマー対は、配列番号 2 7 の塩基配列に基づき、好ましくは前述した条件を満たすように当業者が適宜選択可能である。好ましくは、配列番号 3 9 及び 4 0、配列番号 4 1 及び 4 2、配列番号 4 3 及び 4 4、配列番号 4 5 及び 4 6、配列番号 4 7 及び 4 8、配列番号 4 9 及び 5 0、配列番号 5 1 及び 5 2、並びに配列番号 5 3 及び 5 4 からなるグループから選択される塩基配列を有するいずれかのプライマー対を使用する。より好ましくは、プライマー対は、配列番号 4 5 及び 4 6、並びに配列番号 4 7 及び 4 8 からなるグループから選択される。または、必要であれば上記プライマー対の配列に基づき、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に対する結合特異性を失わないように置換、欠失又は付加を施した配列をプライマーとして採用することも可能である。

【0 1 3 3】

得られた PCR 産物を、制限酵素断片長多型に関して調べるため、それぞれの PCR マーカーに存在する制限部位に対応する制限酵素で切断する。この切断は、用いる制限酵素の推奨反応温度で数時間～一昼夜インキュベーションすることにより行う。制限酵素で切断したそれぞれの増幅 PCR サンプルは、例えば約 0.7 % ないし 2 % アガロースゲルあるいは約 3 % の MetaPhorTM アガロースゲルで電気泳動することにより解析する。例えば、ゲルをエチジウムブロマイド中紫外線下で可視化する。

【0 1 3 4】

本発明の最も好ましい態様において、制限酵素による切断パターンとしては、可視化されたゲル上に、使用するプライマー対に応じて、以下の表 2 のようなバンドの存在の有無が確認される。

【0 1 3 5】

【表 2】

検出されるバンドの

およそのサイズ (bp)

P4497 MboIによる増幅 制限酵素 MboI

(配列番号39および40)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) : 730

有しない場合: 385、345

P9493 BslIによる増幅 制限酵素 BslI

(配列番号41および42)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) : 126

有しない場合: 100、26

P23945 MboIによる増幅 制限酵素 MboI

(配列番号43および44)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) : 160、100

有しない場合: 260

P41030 TaqIによる増幅 制限酵素 TaqI

(配列番号45および46)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) : 280

有しない場合: 90、190

P45177 BstUIによる増幅 制限酵素 BstUI

(配列番号47および48)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) : 20,65,730

有しない場合: 20,65,175,555

B60304 MspIによる増幅 制限酵素 MspI

(配列番号49および50)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合（ホモ）： 330

有しない場合： 220、110

B59066 BsaJIによる増幅 制限酵素 BsaJI

（配列番号51および52）

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合（ホモ）： 420

有しない場合： 65、355

B56691 XbaIによる増幅 制限酵素 XbaI

（配列番号53および54）

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合（ホモ）： 670

有しない場合： 140、530

【0136】

なお、後述の実施例3において、花粉稔性を有するRf-1遺伝子極近傍組換え個体（RS1-RS2、RC1-RC8）について、上記8種のプライマー対を含めた14種の多型マーカーを使用して、Rf-1領域の染色体構成を調べた。その結果、いずれの個体もP9493 BslIないし59066 BsaJIの間については、インディカ型品種由来のRf-1遺伝子を有することが確認された。この結果から、図3で示したような染色体構成をもつ組換え型花粉において、花粉の受精能力があること、すなわち、Rf-1遺伝子が機能していることが示された。これは、これらの組換え型花粉が共有するインディカ型領域、すなわち、最大限に見積もってもP4497 MboI座からB56691 XbaI座までの領域（約65kb）に、Rf-1遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることを意味する。

【0137】

なお、本発明では、交雑による個体の出現頻度からS12564 Tsp509I座とRf-1座とが非常に近接しているとの予測に基づき、染色体歩行を始めた。実際、本発明の高精度分離分析の結果、両座の遺伝的距離は約0.04c

Mと算出された。現在公知となっているRf-1座連鎖マーカーのなかで、最も密接に連鎖しているマーカーは、先述の特開2000-139465に記載されているマーカーのひとつであるが、そのマーカーでもRf-1座との遺伝的距離は1cMと記載されている。イネの場合、平均すると1cMは300kbに相当すると考えられており、特開2000-139465のマーカーを起点に染色体歩行を開始したのでは、Rf-1遺伝子領域の絞込みに相当の時間を要したと考えられる。

【0138】

VI. Rf-1遺伝子の稔性回復機能の抑制方法

本発明において、稔性回復機能を有する核酸を含む、稔性回復遺伝子(Rf-1)座を含む核酸が単離され、その全塩基配列が決定されたことにより、Rf-1遺伝子の稔性回復機能を遺伝子工学的に制御することが可能となった。よって、本発明は、さらに、Rf-1遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法を提供する。

【0139】

本発明のRf-1遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、例えば、配列番号27の塩基配列を有する核酸、又は配列番号27の塩基配列と少なくとも70%同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入する、ことを含む。

【0140】

本発明のRf-1遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、一態様において、配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883の塩基配列を有する核酸、又は配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883の塩基配列と少なくとも70%同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入することを含む。

【 0 1 4 1 】

本発明の R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、特に、好ましい一態様において、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも 1 0 0 塩基の長さのアンチセンスを導入することを含む。

【 0 1 4 2 】

最も好ましくは、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸は、以下の a) - j) の核酸から選択される：

- a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7 を含む核酸；
- b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5 を含む核酸；
- c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0 を含む核酸；
- d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0 を含む核酸；
- e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1 を含む核酸；
- f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7 を含む核酸；
- g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 を含む核酸；

h) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と少なくとも 7 0 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

i) 上記 a) - g) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

j) 上記 a) - g) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

【 0 1 4 3 】

アンチセンスは、少なくとも 1 0 0 塩基以上、より好ましくは 5 0 0 塩基以上、最も好ましくは 1 0 0 0 塩基以上の長さである。導入の技術上の簡便性等の観点より、好ましくは 1 0 0 0 0 塩基以下、より好ましくは 5 0 0 0 塩基以下である。アンチセンスは、公知の方法により合成することが可能である。アンチセンスのイネへの導入は公知の方法により、例えば、T e r a d a e t a l. (

Plant Cell Physiol. 2000 Jul, 41 (7), p. 881-888) に記載の方法により行うことが可能である。

【0144】

また、限定されるわけではないが、Tos17 (Hirochika H. et al. 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, p. 7783-7788) などの転移因子の挿入変異系統のなかから、配列番号27の塩基配列内に転移因子が挿入された系統を選抜することにより、Rf-1が破壊された系統を育成することも可能であると考えられる。さらに、植物においても相同組換えにより遺伝子破壊が研究されている。その系の確立により、配列番号27の塩基配列を有する核酸、または配列番号27の塩基配列と少なくとも70%同一である核酸を用いて、Rf-1遺伝子を変異型Rf-1遺伝子に置換することにより、稔性回復機能を抑制することも可能であると考えられる。

【0145】

参考文献

1. Fukuta et al. 1992, Jpn J. Breed. 42 (supl. 1) p. 164-165
2. 特開平7-222588
3. 特開平9-313187
4. 特開2000-139465
5. Harushima et al. 1998, Genetics 148 p. 479-494
6. Michaels and Amasino 1998, The Plant Journal 14 (3) p. 381-385
7. Neff et al. 1998, The plant Journal 14 (3) p. 387-392
8. D. E. Harry, et al., Theor Appl Genet (1998) 97: p. 327-336
9. Hiei et al., Plant Journal (1994)

- , 6 (2), p. 272-282
10. Komari et al., Plant Journal (1996) 10, p. 165-174
11. Ditta et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1980), 77:p. 7347-7351
12. P. Vos, ẽ, Nucleic Acids Res. Vol. 23, p. 4407-4414 (1995)
13. O. Parnaud, X. ẽ, Mol. Gen. Genet. (1996) 252:p. 597-607
14. A. Koniecznyẽ, (1993), Plant J. 4 (2) p. 403-410
15. Edwardsẽ, Nucleic Acids Res. 8 (6) : 1349, 1991
16. Murray M. G. ẽ, Nucleic Acids Res. 8 (19) : 4321-5, 1980
17. Terada et al., Plant Cell Physiol. 2000 Jul, 41 (7), p. 881-888
18. Hirochika H. et al. 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, p. 7783-7788
19. Cui, X., Wise, R. P. and Schanbl e, P. S. (1996) The rf2 nuclear restorer gene of male-sterile T-cytoplasm maize. Science, 272, 1334-1336
20. Liu, F., Cui, X., Horner, H. T., Weiner, H. and Schnable, P. S. (2001) Mitochondrial aldehyde dehydrogenase activity is required for male fertility in maize. The Plant Cell, 13, 1063-1078

【0146】

【実施例】

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の技術的範囲を限定するためのものではない。当業者は本明細書の記載に基づいて容易に本発明に修飾・変更を加えることができ、それらは本発明の技術的範囲に含まれる。

【0147】

参考例

以下の参考例は、本出願人の先の特許出願 特願2000-247204 (2000年8月17日出願) に記載された実施例に基づく。

【0148】

参考例1 Rf-1遺伝子座周辺RFLPマーカーのPCRマーカー化

本参考例においては、Rf-1遺伝子座周辺RFLPマーカー9個 (R1877、G291、R2303、S12564、C1361、S10019、G4003、S10602、G2155) をPCRマーカー化した。

【0149】

(1) 材料および方法

Rf-1遺伝子座周辺RFLPマーカー9個 (R1877、G291、R2303、S12564、C1361、S10019、G4003、S10602、G2155) を農林水産省農業生物資源研究所から購入し、ベクター内の挿入塩基配列を決定した後、以下の手順で実験を行った。なお、本文中のイネ品種のうち、あそみのりはジャポニカ米であり、IR24はインディカ米である。

【0150】

(2) ゲノミク 라이브ラリーの作製

あそみのりの緑葉から、CTAB法により各々トータルDNAを抽出した。MboIで部分消化後、NaCl密度勾配遠心 (6~20%直線勾配、20℃、37000rpm、4時間、全容量12ml) によりサイズ分画を行った。各分画 (約0.5ml) の一部を電気泳動にかけ、15~20kbのDNAを含む分画を選抜・精製した。ライブラリーの作製は、Lambda DASH II (S

trata gene) をベクターに用いて、付属プロトコルに準拠して行った。パッケージングには、Giga Pack III Gold (Strata gene) を用いた。パッケージング後、SM Buffer 500 μ l およびクロロフォルム 20 μ l を添加した。遠心後の上清にクロロフォルム 20 μ l を添加し、ライブラリー溶液とした。

【0151】

ライブラリー溶液の50倍希釈液5 μ l を用いて、XL-1 Blue MR A (P2) に感染させた。その結果、あそみのりについては83個のプラークが出現した。ライブラリーあたりでは、 4.15×10^5 pfu となり、平均挿入断片長を20 kb とすると、 8.3×10^9 bp をカバーする計算になる。これは、イネゲノム (4×10^8 bp) に対して十分な大きさのライブラリーであると考えられた。

【0152】

(3) R1877、C1361およびG4003対応ゲノミッククローンの単離

C1361およびG4003については、RFLPマーカープローブを含むプラスミドを単離した後、制限酵素処理・電気泳動により、RFLPマーカープローブ部分を分離し、DNA回収フィルター (Takara SUPREC-01) を用いて目的のDNAを回収した。R1877については、マーカープローブ両端部に対してプライマーを設計し、あそみのりトータルDNAをテンプレートにPCRを行い、産物を電気泳動後、前述の方法で回収した。回収したDNAは、rediprime DNA labelling system (Amersham Pharmacia) を用いてラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブとした。なお、PCRは常法により行った (以下、同様)。

【0153】

ライブラリーのスクリーニングは、プラークをHybond-N+ (Amersham Pharmacia) にブロットした後、常法により行った。1stスクリーニング後、陽性プラーク周辺を打ち抜き、SMバッファーに懸濁し、2ndスクリーニングに供試した。2ndスクリーニング後、陽性プラークを打ち

抜き、さらに3rdスクリーニングを行い、単一プラークを分離した。

【0154】

分離した目的プラークをSMバッファーに懸濁後、プレートライセート法によりファージを一次増殖した。得られたファージ増殖液を用いて、振とう培養法により二次増殖を行った後、Lambda starter kit (QIAGEN) を用いてファージDNAを精製した。

【0155】

各マーカーについて、8枚のプレートを用いて1stスクリーニングを行った。プレート1枚につきライブラリー溶液を10 μ l使用した。3rdスクリーニングまで行った結果、R1877、C1361およびG4003対応ゲノミッククローンを、それぞれ、4個、3個および3個単離した。

【0156】

(4) R1877のPCRマーカー化

単離したゲノミッククローンを解析し、RFLPの原因部位、即ち、IR24 (インディカ米) には存在しあそみのり (ジャポニカ米) には存在しないEcoRI部位を同定することにより、PCRマーカー化を行った。

【0157】

具体的には、単離した4クローンについて以下の解析を行った。まず、T3およびT7プライマーを用いて、各クローンの挿入断片の両末端の塩基配列を明らかにした。つぎに、マーカープローブ両端部に対して外向きのプライマーを設計し、T3およびT7プライマーと組合わせ (合計4プライマー組合せ)、各クローンをテンプレートにPCRを行った。

【0158】

また、各クローンをNotIおよびEcoRIで消化した後、電気泳動することにより、挿入断片長および各EcoRI断片長を推定した。

これらの解析の結果、各クローンの位置関係を明らかにすることができた。一方、RFLP解析ではマーカープローブR1877により日本晴 (ジャポニカ米) では20kb、Kasalath (インディカ米) では6.4kbのEcoRI断片が検出されること (ftp://ftp.staff.or.jp/pu

b/geneticmap98/parentsouthern/chr10/R1877.JPG) ことが知られている。これらの事実を併せ考えることにより、IR24には存在しあそみのりには存在しないEcoRI部位のおおよその位置が推定できた。そこで、その周辺を増幅するように設計したプライマー組合わせ（配列番号1と配列番号2）を用いて、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サイクルとし30サイクルのPCR条件にてゲノミックPCRを行った。得られたPCR産物をEcoRI処理した後、0.7%アガロースゲルで電気泳動した。

【0159】

その結果、あそみのり-IR24間で期待通りの多型が観察された。すなわち、PCR産物（約3200bp）のEcoRI処理により、IR24では1500bpと1700bpとに切断されるのに対し、あそみのりでは切断されなかった。あそみのり-IR24のRIL (Recombinant Inbred Line) を用いてこのPCRマーカーをマッピングした結果、RFLPマーカー座R1877と同一領域に位置づけられ、RFLPマーカーR1877がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをR1877 EcoRIと命名した。

【0160】

(5) G4003のPCRマーカー化

単離したゲノミッククローンを解析し、RFLPの原因部位、即ち、あそみのりには存在しIR24には存在しないHindIII部位を同定することにより、PCRマーカー化を行った。

【0161】

R1877と同様の解析を行い、単離した3クローンの位置関係を明らかにした。RFLP解析ではマーカープローブG4003により日本晴（ジャポニカ米）では3kb、Kasalathでは10kb（インディカ米）のHindIII断片が検出されること（ftp://ftp.staff.or.jp/pub/geneticmap98/parentsouthern/chr10/R1877.JPG）ことが知られている。これらの事実を併せ考えることによ

り、あそみのりには存在し I R 2 4 には存在しない H i n d I I I 部位が、2 個の候補部位のいずれかであると推定された。そこで、各 H i n d I I I 部位周辺を増幅するように設計したプライマー組合せ（配列番号 3 および配列番号 4）を用いて、94℃にて 30 秒、58℃にて 30 秒、72℃にて 30 秒を 1 サイクルとし 35 サイクルの条件で、ゲノミック P C R を行った。得られた P C R 産物を H i n d I I I 処理後、2 % アガロースゲルで電気泳動したところ、マーカーブローブ内部の H i n d I I I 部位が多型部位であることが示された。すなわち、P C R 産物（362bp）の H i n d I I I 処理により、あそみのりでは 95bp と 267bp とに切断されるのに対し、I R 2 4 では切断されなかった。マッピングの結果、R F L P マーカー G 4 0 0 3 が P C R マーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを G 4 0 0 3 H i n d I I I（配列番号 19）と命名した。

【0162】

（6）C 1 3 6 1 の P C R マーカー化

単離したゲノミッククローンの塩基配列情報に基づいてプライマーを設計した。あそみのりおよび I R 2 4 のトータル DNA をテンプレートに P C R を行い、産物を電気泳動後、既述の方法で回収した。回収した DNA をテンプレートに用いて、A B I M o d e l 310 により各品種の塩基配列を解読し、多型作出に利用可能な変異を探索した。

【0163】

R 1 8 7 7 と同様の解析を行い、単離した 3 クローンのおおよその位置関係を明らかにすることはできた。しかし、C 1 3 6 1 マーカー周辺には P C R 増幅しにくい領域や塩基配列を解読できない領域が存在することが明らかになり、R F L P 原因部位を同定することは困難であると考えられた。そこで、比較的長い P C R 産物（2.7kb）が得られる領域に着目し、d C A P S 化を試みることにした。

【0164】

具体的には、あそみのり、コシヒカリ（以上、ジャポニカ米）及び K a s a l a t h、I R 2 4（以上、インディカ米）を用いて、前記領域のゲノミック P C

R産物の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米・インディカ米間で多型を示す部位を6ヶ所見出すことができた。そのうちのひとつについて、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号5および配列番号6を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMwoI処理後、3%MetaPhorTMアガロースで電気泳動することにより解析した。あそみのりでは2箇所で切断され、約25bp、50bp、79bpのバンドが観察され、IR24では1箇所で切断され、約50bp、107bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーC1361がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをC1361 MwoI（配列番号20）と命名した。

【0165】

（7）G2155のPCRマーカー化

マーカープロブ両端部に対してプライマーを設計し、あそみのり、コシヒカリ、IR24およびIL216（戻し交雑によりコシヒカリにRf-1遺伝子を導入した系統、遺伝子型はRf-1/Rf-1）のトータルDNAをテンプレートにPCRを行った。PCR産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

【0166】

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、Rf-1遺伝子保有品種系統（IR24およびIL216）とRf-1遺伝子非保有品種系統（あそみのりおよびコシヒカリ）との間の変異が3ヶ所見出された。そのうちのひとつを利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号7及び配列番号8を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMwoI処理後、3%MetaPhorTMアガロースで電気泳動することにより解析した。あそみのりでは1箇所で切断され、約25bp及び105bpのバンドが観察され、IR24では2箇所で切断され、約25bp、27bp及び78bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカー

ーG2155がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをG2155 Mwo I（配列番号21）と命名した。

【0167】

（8）G291のPCRマーカー化

マーカープローブ内部配列に対してプライマーを設計し、種々のプライマー組合わせでPCRを行い、期待される大きさの増幅産物が得られるプライマー組合わせを探索した。探索により見出したプライマー組合わせで、あそみのり、コシヒカリ、IR24およびIL216のトータルDNAをテンプレートにPCRを行った。PCR産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

【0168】

具体的には、マーカープローブ配列に対して設計したプライマーを用いて、供試品種のゲノミックPCRを行い、産物の塩基配列を比較した。その結果、Rf-1遺伝子保有品種系統（IR24およびIL216）とRf-1遺伝子非保有品種系統（あそみのりおよびコシヒカリ）との間の変異が4ヶ所見出された。そのうちのひとつを利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号9及び配列番号10を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMsp I処理後、3%MetaPhorTMアガロースで電気泳動することにより解析した。Rf-1遺伝子保有品種系統では2箇所切断され、約25bp、49bp及び55bpのバンドが観察され、Rf-1遺伝子非保有品種系統では1箇所切断され、約25bp及び104bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーG291がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをG291 Msp I（配列番号22）と命名した。

【0169】

（9）R2303のPCRマーカー化

マーカープローブ内部配列に対してプライマーを設計し、あそみのり（ジャボニカ米）、IR24およびKasalath（インディカ米）のトータルDNA

をテンプレートにPCRを行った。産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

【0170】

供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャボニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。この変異は、B s l I 認識部位に生じていたので、そのままCAPSマーカーとした。この過程で、プライマーとして配列番号11及び配列番号12を用い、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サイクルとし30サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をB s l I 処理後、2%アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャボニカ米では1箇所切断され、約238bp及び1334bpのバンドが観察され、インディカ米では2箇所切断され、約238bp、655bp及び679bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーR2303がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをR2303 B s l I (配列番号23)と命名した。

【0171】

(10) S10019のPCRマーカー化

S10019のPCRマーカー化は、上記R2303のPCRマーカー化の方法(9)にしたがって行った。

【0172】

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャボニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。この変異は、B s t U I 認識部位に生じていたので、そのままCAPSマーカーとした。この過程で、プライマーとして配列番号13及び配列番号14を用い、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて1分を1サイクルとし30サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をB s t U I 処理後、2%アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャボニカ米では1箇所切断され、約130bp及び462bpのバンドが観察され、インディカ米では2箇所切断され、約130bp、218bp及び244bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーS10019がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを

B s t U I (配列番号 24) と命名した。

【0173】

(11) S10602 の P C R マーカー化

S10602 の P C R マーカー化は、上記 R2303 の P C R マーカー化の方法 (9) にしたがって行った。

【0174】

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。その変異を利用して、C A P S 化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号 15 及び配列番号 16 を用い、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて1分を1サイクルとし33サイクルの P C R 条件にて P C R を行った。得られた P C R 産物を K p n I 処理後、2%アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では1箇所で切断され、約117bp及び607bpのバンドが観察され、インディカ米では切断されず、724bpのバンドが観察された。マッピングの結果、R F L P マーカー S10602 が P C R マーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを S10602 K p n I (配列番号 25) と命名した。

【0175】

(12) S12564 の P C R マーカー化

S12564 の P C R マーカー化は、R2303 の P C R マーカー化の方法にしたがって行った。

【0176】

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。その変異を利用して、d C A P S 化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号 17 及び配列番号 18 を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルの P C R 条件にて P C R を行った。得られた P C R 産物を T s p 5 0 9 I 処理後、3% M e t a P h o rTM アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では2箇所で切断され、26bp、41bp及び91bpのバンドが観察され、インディカ米では1箇所で切断され、41bp及び117bpのバ

ンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーS12564がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをS12564 Tsp509I（配列番号26）と命名した。

【0177】

参考例2 Rf-1遺伝子座のマッピング

MSコシヒカリにMS-FRコシヒカリの花粉をかけて作成したF1集団1042個体の幼苗からDNAを抽出し、分析に供試した。ここで、MSコシヒカリとは、細胞質をBT型雄性不稔細胞質に置換したコシヒカリである（世代：BC10F1）。また、MS-FRコシヒカリとは、IR8（農業生物資源研究所より入手）に由来するRf-1遺伝子をMSコシヒカリに導入した系統である（Rf-1遺伝子座ヘテロ）。

【0178】

まず、Rf-1遺伝子座を挟むと考えられる、参考例1に記載の2個のマーカー座R1877 EcoRIおよびG2155 MwoIにおける各個体の遺伝子型を調査した。R1877 EcoRI座またはG2155 MwoI座に関してジャポニカ米型ホモ個体を、これら2マーカー座間での組換え体とみなした。つぎに、各組換え体について、さらに、G291 MspI座、R2303 BslI座、S12564 Tsp509I座、C1361 MwoI座、S10019 BstUI座、G4003 HindIII座およびS10602 KpnI座の遺伝子型を調査し、組換え位置を同定した。

【0179】

R1877 EcoRI座およびG2155 MwoI座に関する遺伝子型調査の結果、稈性を回復した46個体がRf-1遺伝子座付近での組換え体であることが明らかになった。これら組換え体について、Rf-1遺伝子座近傍マーカー座の遺伝子型を調査した結果を表3に示す。

【0180】

S12564 Tsp509I座とC1361 MwoI座との間に存在することが判明した。上記交配において、BT型雄性不稔細胞質を持つ個体では、Rf-1遺伝子をもつ花粉のみが受精能力を持つとの報告(C. Shinjyo, JAPAN. J. GENETICS Vol. 44, No. 3: 149-156 (1969))に基づいて、Rf-1遺伝子座を詳細連鎖地図上に位置づけることができた(図4)

【0182】

実施例1 Rf-1座極近傍組換え個体の獲得

(材料および方法)

MSコシヒカリ(世代: BC10F1)にMS-FRコシヒカリ(世代: BC9F1、Rf-1座ヘテロ)の花粉をかけて作成したBC10F1集団4103個体を用い、各個体からDNAを抽出し、上記参考例2と同様に、S12564 Tsp509I座およびC1361 MwoI座の遺伝子型を調査した。S12564 Tsp509I座の遺伝子型がコシヒカリ型ホモ個体を、Rf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換えにより生じた個体とみなし、C1361 MwoI座の遺伝子型がコシヒカリ型ホモ個体を、Rf-1座とC1361 MwoI座との間での組換えにより生じた個体とみなした。

【0183】

(結果および考察)

4103個体を調査した結果、Rf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換え個体を1個体、Rf-1座とC1361 MwoI座との間での組換え個体を6個体見出した。一方、上記参考例2において交配により得られた1042個体を調査した結果、表3に示したように、Rf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換え個体を1個体、Rf-1座とC1361 MwoI座との間での組換え個体を2個体見出している。

【0184】

合計すると、5145個体から、Rf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換え個体を2個体、Rf-1座とC1361 MwoI座との間での組換え個体を8個体獲得できたことになる。これら10個体を以下の実施例

における高精度分離分析に供試することにした。

【0185】

実施例2 染色体歩行

(1) 1回目染色体歩行

(材料および方法)

ジャポニカ品種あそみのり (Rf-1 非保有品種) のゲノムDNAを用いて、参考例1に記載したようにLambda DASH IIベクターによりゲノミックライブラリーを作成し、染色体歩行に供試した。

RFLPプローブ S12564の部分塩基配列 (アクセッション番号D47284) に対して次のプライマー対:

【0186】

【化1】

5' -atcaggagccttcaaattgggaac-3' (配列番号29) および

5' -ctcgcaaattgcttaattttgacc-3' (配列番号30)

を設計し、あそみのりトータルDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた約1200bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。精製したDNAは、rediprime DNA labelling system (Amersham Pharmacia社) を用いてラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ (プローブA、図1) とした。

【0187】

ライブラリーのスクリーニングは、ブランクをHybond-N⁺ (Amersham Pharmacia社) にブロットした後、常法により行った。単一ブランクを分離した後、Lambda Midi kit (QIAGEN社) を用いてプレートライセート法によりファージDNAを精製した。

【0188】

(結果および考察)

スクリーニングにより4個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ (WSA1およびWSA3) は

図 1 に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSA 1 および WSA 3 に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した（DNA シーケンサー 3 7 7、ABI 社）。

【0 1 8 9】

(2) 2 回目染色体歩行

(材料および方法)

既述のあそみのりゲノミックライブラリーに加え、インディカ品種 IR 2 4 (R f - 1 保有品種) のゲノム DNA から同様に作成した IR 2 4 ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

(1) で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対して次のプライマー対：

【0 1 9 0】

【化 2】

5' - tgaaggagttatgggtgcgtgacg - 3' (配列番号 3 1) および

5' - ttgccgagcacacttgccatgtgc - 3' (配列番号 3 2)

を設計し、WSA 3 の DNA をテンプレートに用いて、定法に従い PCR を行った。得られた 5 2 4 b p の増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブ E、図 1）とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージ DNA の精製は、既述の方法で行った。

【0 1 9 1】

(結果および考察)

あそみのりゲノミックライブラリースクリーニングにより 1 5 個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのひとつ (WSE 8) は図 1 に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSE 8 に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

【0 1 9 2】

IR 2 4 ゲノミックライブラリースクリーニングにより 7 個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ (XSE 1 および XSE 7) は図 1 に示した位置関係にあることが示された。

プライマー歩行により、XSE1およびXSE7に対応するIR24ゲノム塩基配列を決定した。

【0193】

(3) 3回目染色体歩行

(材料および方法)

既述のあそみのりゲノミックライブラリーおよびIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

(2) で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対して次のプライマー対：

【0194】

【化3】

5' -gcgacgcaatggacatagtgtctcc-3' (配列番号33) および

5' -ttacctgccaagcaatatccatcg-3' (配列番号34)

を設計し、WSE8のDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた1159bpの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブF、図1）とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

【0195】

(結果および考察)

あそみのりゲノミックライブラリースクリーニングにより8個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ（WSF5およびWSF7）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSF5およびWSF7に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

【0196】

IR24ゲノミックライブラリースクリーニングにより13個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ（XSF4およびXSF20）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSF4およびXSF20に対応するIR24ゲノ

ム塩基配列を決定した。

【0197】

(4) 4回目染色体歩行

(材料および方法)

既述のあそみのりゲノミックライブラリーおよびIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

(3) で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対してプライマー対：

【0198】

【化4】

5' -aaggcatactcagtggagggaag- 3' (配列番号35) および

5' -ttaacctgaccgcaagcacctgtc- 3' (配列番号36)

を設計し、WSF7のDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた456bpの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブG、図1）とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

【0199】

(結果および考察)

あそみのりゲノミックライブラリースクリーニングにより6個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ（WSG2およびWSG6）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSG2およびWSG6に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

【0200】

IR24ゲノミックライブラリースクリーニングにより14個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちの3クローン（XSG8、XSG16およびXSG22）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSG8、XSG16およびXSG22に対応するIR24ゲノム塩基配列を決定した。

【0201】

(5) 5回目染色体歩行

(材料および方法)

既述のIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

本発明者らは、TIGR (The Institute for Genomic Research) の公開ホームページを閲覧し、RFLPマーカーS12564を包含するBAC (Bacterial Artificial Chromosome) クローン (アクセッション番号AC068923) が公開データベース (GenBank) に登録されていることを見出した。このBACクローンは、ジャポニカ品種日本晴のゲノムDNAを含むものであり、塩基配列を比較したところ、(1) - (4) で作成したあそみのりおよびIR24のコンテイング領域を完全に包含することが示された (図2)。

そこで、このBACクローンの一部を増幅する次のプライマー対：

【0202】

【化5】

5' - tggatggactatgtggggtcagtc - 3' (配列番号37) および

5' - agtgggaagtggagagagtagggag - 3' (配列番号38)

を設計し、IR24トータルDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた約600bpの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ (プローブH、図1) とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

【0203】

(結果および考察)

IR24ゲノミックライブラリースクリーニングにより15個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのひとつ (XSH18) は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSH18に対応するIR24ゲノム塩基配列を決定した。

【0204】

実施例 3 高精度分離分析

(1) PCRマーカー P4497 MboI の開発

実施例 2 で明らかにした IR24 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 27）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 28）とを比較した結果、配列番号 27 の 1239 番目の塩基が A であるのに対し、当該位置に対応する配列番号 28 の 12631 番目の塩基は G であることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

【0205】

【化 6】

P4497 MboI F：

5' -ccctccaacacataaatggttgag-3' （配列番号 39）

（配列番号 27 の塩基 853-876 に相当）

（配列番号 28 の塩基 12247-12270 に相当）

および

P4497 MboI R：

5' -tttctgccaggaaactgttagatg-3' （配列番号 40）

（配列番号 27 の塩基 1583-1560 に相当）

（配列番号 28 の塩基 12975-12952 に相当）

を用いて当該部位周辺の PCR 増幅を行い約 730bp の断片を増幅する。増幅産物を MboI 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24 DNA からの増幅産物は MboI の認識配列（GATC）をもたず、MboI 処理により切断されないのに対し、あそみのり DNA からの増幅産物は MboI の認識配列をもち、MboI 処理により切断されるため、MboI 処理後の DNA 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0206】

(2) PCRマーカー P9493 BslI の開発

実施例 2 で明らかにした IR24 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列

番号27)とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列(配列番号28)とを比較した結果、配列番号27の6227番目の塩基がAであるのに対し、当該位置に対応する配列番号28の17627番目の塩基はCであることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対:

【0207】

【化7】

P9493 B s l I F:

5' -gcgatcttatacgcatactatgcg-3' (配列番号41)

(配列番号27の塩基6129-6152に相当)

(配列番号28の塩基17529-17552に相当)

および

P9493 B s l I R:

5' -aaagtctttgttccttcaccaagg-3' (配列番号42)

(配列番号27の塩基6254-6231に相当)

(配列番号28の塩基17654-17631に相当)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い126bpの断片を増幅する。増幅産物をB s l I処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はB s l Iの認識配列(C C N N N N N N N G G)をもたず、B s l I処理により切断されないのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はB s l Iの認識配列をもち、B s l I処理により切断されるため、B s l I処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0208】

なお、本マーカーの開発には、dCAPS法(Michael s and A masino 1998, Neff et al 1998)を適用した。具体的には、前記P9493 B s l I Rプライマーの使用により、配列番号27の6236および配列番号28の17636のaがgに置換される。これにより、あそみのりDNA由来の断片は、配列番号28の17626-17636の

部分の配列がCCtttcccttGGとなり、BslI処理により切断される。

【0209】

(3) PCRマーカーP23945 MboIの開発

実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号27）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号28）とを比較した結果、配列番号27の20680番目の塩基がGであるのに対し、当該位置に対応する配列番号28の32079番目の塩基はAであることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

【0210】

【化8】

P23945 MboI F：

5' -gaggatttatcaaaacaggatggacg-3' （配列番号43）

（配列番号27の塩基20519-20544に相当）

（配列番号28の塩基31918-31943に相当）

および

P23945 MboI R：

5' -tgggcggcagcagtgaggataga-3' （配列番号44）

（配列番号27の塩基20778-20755に相当）

（配列番号28の塩基32177-32154に相当）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い260bpの断片を増幅する。増幅産物をMboI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はMboIの認識配列（GATC）をもち、MboI処理により切断されるのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はMboIの認識配列をもたず、MboI処理により切断されないため、MboI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0211】

(4) PCRマーカーP41030 TaqIの開発

実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 7）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 8）とを比較した結果、配列番号 2 7 の 4 5 4 6 1 番目の塩基が A であるのに対し、当該位置に対応する配列番号 2 8 の 4 9 1 6 4 番目の塩基は G であることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

【0 2 1 2】

【化 9】

P 4 1 0 3 0 T a q I F :

5' - a a g a a g g g a g g g t t a t a g a a t c t g - 3' (配列番号 4 5)

(配列番号 2 7 の塩基 4 5 3 6 9 - 4 5 3 9 2 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 4 9 0 7 2 - 4 9 0 9 5 に相当)

および

P 4 1 0 3 0 T a q I R :

5' - a t a t c a g g a c t a a c a c c a c t g c t c - 3' (配列番号 4 6)

(配列番号 2 7 の塩基 4 5 6 4 8 - 4 5 6 2 5 に相当)

(配列番号 2 8 の塩基 4 9 3 5 1 - 4 9 3 2 8 に相当)

を用いて当該部位周辺の P C R 増幅を行い 2 8 0 b p の断片を増幅する。増幅産物を T a q I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 DNA からの増幅産物は T a q I の認識配列（T C G A）をもたず、T a q I 処理により切断されないのに対し、あそみのり DNA からの増幅産物は T a q I の認識配列をもち、T a q I 処理により切断されるため、T a q I 処理後の DNA 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0 2 1 3】

(5) P C R マーカ P 4 5 1 7 7 B s t U I の開発

実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 7）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号 2 8）とを比較した結果、配列番号 2 7 の 4 9 6 0 9 番目の塩基が A であるのに対し、

当該位置に対応する配列番号28の53311番目の塩基はGであることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

【0214】

【化10】

P45177 BstUI F：

5' -acgagtagtagcgatcttccagcg-3' (配列番号47)

(配列番号27の塩基49355-49378に相当)

(配列番号28の塩基53057-53080に相当)

および

P45177 BstUI R：

5' -cagcgtgaaactaaaaacggaggc-3' (配列番号48)

(配列番号27の塩基50166-50143に相当)

(配列番号28の塩基53868-53845に相当)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い812bpの断片を増幅する。増幅産物をBstUI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はBstUIの認識配列(CGCG)を2箇所もち、BstUI処理により3個の断片に切断されるのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はBstUIの認識配列を3箇所もち、BstUI処理により4個の断片に切断されるため、BstUI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0215】

(6) PCRマーカーB60304 MspIの開発

実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列(配列番号27)と既述のBACクローン(アクセッション番号AC068923)の塩基配列とを比較した結果、配列番号27の56368番目の塩基がTであるのに対し、当該位置に対応するAC068923の塩基はCであることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対：

【0216】

【化11】

B60304 MspI F：

5' -atccacatcatcataatccgacc-3' (配列番号49)

(配列番号27の塩基56149-56172に相当)

および

B60304 MspI R：

5' -agcttctcccttggatacgggtggcg-3' (配列番号50)

(配列番号27の塩基56479-56455に相当)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い約330bpの断片を増幅する。増幅産物をMspI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はMspIの認識配列(CCGG)をもたず、MspI処理により切断されないのに対し、日本晴DNAからの増幅産物はMspIの認識配列をもち、MspI処理により切断されるため、MspI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0217】

なお、本マーカーの開発には、dCAPS法を適用した。具体的には、B60304 MspI Rプライマーの使用により、配列番号27の56463のgがtに置換される。これにより、配列番号27の56460-56463のMspIの認識配列CCGGがccgtとなり、MspIによって切断されなくなる。よって、IR24由来の断片はMspIの認識配列を一つも有さず、一方、日本晴由来のDNAは、配列番号27の56367-56370に対応する領域に1箇所MspIの認識配列を有することとなる。

【0218】

(7) PCRマーカーB59066 BsaJIの開発

実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列(配列番号27)と既述のBACクローン(アクセッション番号AC068923)の

塩基配列とを比較した結果、配列番号27の57629番目の塩基がCであるのに対し、当該位置に対応するAC068923の塩基はCCであることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対：

【0219】

【化12】

B59066 BsaJI F：

5' -atttggttggttagttgcggctgag-3' (配列番号51)

(配列番号27の塩基57563-57586に相当)

および

B59066 BsaJI R：

5' -gcccaaactcaaaaggagagaacc-3' (配列番号52)

(配列番号27の塩基57983-57960に相当)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い約420bpの断片を増幅する。増幅産物をBsaJI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はBsaJIの認識配列(CCNNGG)をもたず、BsaJI処理により切断されないのに対し、日本晴DNAからの増幅産物はBsaJIの認識配列をもち、BsaJI処理により切断されるため、BsaJI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0220】

(8) PCRマーカーB56691 XbaIの開発

実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列(配列番号27)と既述のBACクローン(アクセッション番号AC068923)の塩基配列とを比較した結果、配列番号27の66267番目の塩基がGであるのに対し、当該位置に対応するAC068923の塩基はCであることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対：

【0221】

【化13】

B56691 XbaI F:

5' -cctcaagtctcccctaaagccact-3' (配列番号53)

(配列番号27の塩基66129-66152に相当)

および

B56691 XbaI R:

5' -gctctactgctgataaacggtgag-3' (配列番号54)

(配列番号27の塩基66799-66776に相当)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い約670bpの断片を増幅する。増幅産物をXbaI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はXbaIの認識配列(TCTAGA)をもたず、XbaI処理により切断されないのに対し、日本晴DNAからの増幅産物はXbaIの認識配列をもち、XbaI処理により切断されるため、XbaI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0222】

(9) PCRマーカーB53627 BstZ17Iの開発

実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列(配列番号27)と既述のBACクローン(アクセッション番号AC068923)の塩基配列とを比較した結果、配列番号27の69331番目の塩基がTであるのに対し、当該位置に対応するAC068923の塩基はCであることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対:

【0223】

【化14】

B53627 BstZ17I F:

5' -tggatggactatgtggggtcagtc-3' (配列番号55)

(配列番号27の塩基68965-68988に相当)

および

B 5 3 6 2 7 B s t Z 1 7 I R :

5' - agtgggaagtggagagagtagggag - 3' (配列番号 56)

(配列番号 27 の塩基 69582 - 69559 に相当)

を用いて当該部位周辺の PCR 増幅を行い約 620bp の断片を増幅する。
増幅産物を B s t Z 1 7 I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、
可視化することができる。すなわち、I R 24 DNA からの増幅産物は B s t Z
1 7 I の認識配列 (G T A T A C) をもち、X b a I 処理により切断されるのに
対し、日本晴 DNA からの増幅産物は B s t Z 1 7 I の認識配列をもたず、B s
t Z 1 7 I 処理により切断されないため、B s t Z 1 7 I 処理後の DNA 鎖長が
異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0224】

(10) PCR マーカー B 4 0 9 3 6 M s e I の開発

以下の (10) - (12) の PCR マーカーの開発はいずれも、配列番号 27
の 3' 末端 76363 よりもさらに下流 (3' 末端) 側に相当する塩基配列につ
いての研究に関する。

既述の B A C クローン (アクセッション番号 A C 0 6 8 9 2 3) の塩基配列に
対して、次のプライマー対：

【0225】

【化 15】

5' - tacgacgccatttcactccattgc - 3' (配列番号 57)

および

5' - catttctctatgggcgttgctctg - 3' (配列番号 58)

を設計した。このプライマー対を用いて、MS-FR コシヒカリ (R f - 1 座の
遺伝子型は R f - 1 R f - 1) およびコシヒカリのトータル DNA をテンプレ
ートに、定法に従い PCR を行った。得られた約 1300bp の増幅産物を、ア
ガロースゲルでの電気泳動後、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製
した。精製した DNA の塩基配列を、DNA シーケンサー 377 (A B I 社) に
より解析した結果、数箇所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

6]

M s e I F :

aggtatggcaccttcaacac-3' (配列番号59)

M s e I R :

tacgaagttcaaattgtatgg-3' (配列番号60)

立周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をM s e I 処理後、アガロ
 ー動することにより、可視化することができる。すなわち、MS
 (R f - 1 R f - 1) DNAからの増幅産物はM s e I の認
 識配列をもち、M s e I 処理により切断されるのに対し、コシヒカ
 リの増幅産物はM s e I の認識配列をもたず、M s e I 処理により切
 断されない。M s e I 処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移
 動速度が異なることから、アガロースゲル中の移動速度を比較し、
 増幅産物の存在を確認することができる。

ーの開発には、dCAPS法を適用した。

アーカーB19839 M w o I の開発

1ー (アクセッション番号AC068923) の塩基配列に
 マー対:

gggcatccctttcg-3' (配列番号61)

icgacagacacgac-3' (配列番号62)

ライマー対を用いて、MS-FRコシヒカリ (R f - 1 R
 ーカリのトータルDNAをテンプレートに、定法に従いPC
 ー約1200bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳
 動 (Q I A G E N 社) を用いて精製した。精製したDNAの
 ーケンサー377 (A B I 社) により解析した結果、数個

所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

【0229】

【化18】

B19839 Mw o I F：

5' -tcctatggctgttttagaaactgcaca- 3' (配列番号63)

および

B19839 Mw o I R：

5' -caagttcaaacataactggcgttg- 3' (配列番号64)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をMw o I処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、MS-FRコシヒカリ(Rf-1 Rf-1) DNAからの増幅産物はMw o Iの認識配列(GCNNNNNNNGC)をもたず、Mw o I処理により切断されないのに対し、コシヒカリDNAからの増幅産物はMw o Iの認識配列をもち、Mw o I処理により切断されるため、Mw o I処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0230】

なお、本マーカーの開発には、dCAPS法を適用した。

(12) PCRマーカーB2387 Bfa I の開発

既述のBACクローン(アクセッション番号AC068923)の塩基配列に対して、次のプライマー対：

【0231】

【化19】

5' -cactgtcctgtaagtgtgctgtgc- 3' (配列番号65)

および

5' -caagcgtgtgataaaaatgtgacgc- 3' (配列番号66)

を設計した。このプライマー対を用いて、MS-FRコシヒカリ(Rf-1 Rf-1) およびコシヒカリのトータルDNAをテンプレートに、定法に従いPCRを行った。得られた約1300bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳

動後、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製した。精製したDNAの塩基配列を、DNAシーケンサー377 (A B I 社) により解析した結果、数個所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

【0232】

【化20】

B 2 3 8 7 B f a I F :

5' - tgcctactgccattactatgtgac - 3' (配列番号67)

および

B 2 3 8 7 B f a I R :

5' - acatactaccgtaaattggtctctg - 3' (配列番号68)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をB f a I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、MS-FRコシヒカリ (R f - 1 R f - 1) DNAからの増幅産物はB f a I の認識配列 (C T A G) をもたず、B f a I 処理により切断されないのに対し、コシヒカリDNAからの増幅産物はB f a I の認識配列をもち、B f a I 処理により切断されるため、B f a I 処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

【0233】

(13) 分離分析

実施例1で得られた、R f - 1 座とS 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体2個体 (R S 1 およびR S 2) およびR f - 1 座とC 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換え個体8個体 (R C 1 からR C 8) について、上記(1)ないし(12)で開発した12個のDNAマーカー座の遺伝子型を調査した。結果を、各個体のS 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座およびC 1 3 6 1 M w o I 座の遺伝子型とともに表4に示した。

【0234】

【表 4】

表 4 Rf-1 座極近傍組換え個体のマーカー座遺伝子型

Locus	RS1	RS2	RC1	RC2	RC3	RC4	RC5	RC6	RC7	RC8
S12584 Tsp5091	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H
P4497 MboI	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H
P9493 BslI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P23945 MboI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P41030 TaqI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P45177 BstUI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B60304 MspI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B59066 BsaJI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B56691 XbaI	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B53627 BstZ171	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B40936 MseI	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B19839 MwoI	H	H	H	H	H	J	H	J	H	H
B2387 BfaI	H	H	H	H	H	J	H	J	H	J
C1361 MwoI	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J

J コシヒカリ型ホモ
H コシヒカリ型/MS-FRコシヒカリ型ヘテロ

【0235】

表 4 は、いずれの個体も P9493 BslI ないし 59066 BsaJI の間については、インディカ型品種由来の Rf-1 染色体領域を有することを示す。この結果から、図 3 で示したような染色体構成をもつ組換え型花粉において、花粉の受精能力があること、すなわち、Rf-1 遺伝子が機能していることが示された。これは、これらの組換え型花粉が共有するインディカ型領域、すなわち、最大限に見積もっても P4497 MboI 座から B56691 XbaI 座までの領域（約 65 kb）に、Rf-1 遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることを意味する。

【0236】

ただし、Rf-1 遺伝子の一部の遺伝子型がインディカ型であることが、Rf-1 遺伝子の遺伝子機能発現に重要であり、残りの部分はジャポニカ型でもインディカ型でも遺伝子機能に大きな差異を生じない可能性がある。よって、上記共有インディカ型領域（配列番号 27 の塩基 1239 ないし 66267）が Rf-1 遺伝子全体を完全に包含するとは、断定できない。しかしながら、以下の理由

- 1) 遺伝子の大きさは通常数 kb であり 10 kb を超えることは稀である；
- 2) 本発明で明らかにした IR24 のゲノム塩基配列（配列番号 27）は、上記共有インディカ型領域を完全に包含する；
- 3) 配列番号 27 の 5' 末端は、上記共有インディカ型領域の 5' 末端から

1238bp上流に位置し、別の遺伝子(S12564)の一部である；および

4) 配列番号27の3'末端は、上記共有インディカ型領域の3'末端から10096bp下流に位置する

により、少なくとも配列番号27はRf-1遺伝子全体を完全に包含すると考えられる。

【0237】

実施例4 XSE1由来の9.7kb断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSE1(図1および5)をNotIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された9.7kbの断片(配列番号27の塩基1-9657を含む)を、QIAEXII(QIAGEN社)を用いて精製した。

【0238】

一方、pSB11(Komariら、上述)を基に、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクターpSB200を作成した。具体的には、まず、ユビキチンプロモーターとユビキチンイントロン(Pubi-ubiI)に、ノパリン合成酵素のターミネーター(Tnos)を接続した。これより得られたPubi-ubiI-Tnos接続体のubiI-Tnos間に、ハイグロマイシン体制遺伝子(HYG(R))を挿入することにより、Pubi-ubiI-HYG(R)-Tnosからなる接続体を得た。この接続体を、pSB11のHindIII/EcoRI断片に接続することにより、pKY205を得た。このpKY205のPubi上流に存在するHindIII部位にNotI、NspV、EcoRV、KpnI、SacI、EcoRIの制限酵素部位を追加するためのリンカー部位を挿入することにより、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを有するpSB200を得た。

【0239】

上記プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP(TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動

にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0240】

上記により準備した、X S E 1由来の9.7kb断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r. 1 (TAKARA社) を用いてライゲーション反応を行った。反応後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAを純水 (M i l l i p o r e社製装置により作成) に溶解後、大腸菌DH5αと混合し、エレクトロポレーションに供試した。エレクトロポレーション後の溶液を、LB培地で振盪培養 (37℃、1時間) した後、スペクチノマイシンを含むLBプレートに広げ、加温 (37℃、16時間) した。生じたコロニーのなかの24個についてプラスミドを単離した。その制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、組換えプラスミドにより形質転換された所望の大腸菌を選抜した。

【0241】

上記により選抜した大腸菌を、A g r o b a c t e r i u m t u m e f a c i e n s 菌株LBA4404/pSB1 (K o m a r i e t a l, 1996) およびヘルパー大腸菌HB101/pRK2013 (D i t t a e t a l, 1980) とともに供試して、D i t t a e t a l (1980) の方法に従い、三菌系交雑 (t r i p a r e n t i a l m a t i n g) を行った。スペクチノマイシンを含むABプレートに生じたコロニーのなかの6個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンを調査することにより、所望のアグロバクテリウムを選抜した。

【0242】

上記により選抜したアグロバクテリウムを用いて、H i e i e t a l (1994) の方法に準拠し、MSコシヒカリ (BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一) の形質転換を行った。形質転換に必要なMSコシヒカリの未熟種子は、MSコシヒカリにコシヒカリの花粉をかけることにより作成した。

【0243】

形質転換植物は、馴化後、長日条件の温室に移した。移植適期まで育成した後

、48個体の植物を、1/5000アールのワグネルポットに移植し（4個体／ポット）、移植3～4週間後に短日条件の温室に移した。出穂約1か月後に、種子稔性を立毛調査した。

【0244】

（結果および考察）

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した9.7kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

【0245】

実施例5 XSE7由来の14.7kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

λファージクローンXSE7（図1および5）をEcoRIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、DNA Blunting Kit（TAKARA社）により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された14.7kbの断片（配列番号27の塩基2618-17261を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

【0246】

一方、プラスミドベクターpSB200をSacIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP（TAKARA社）により脱リン酸化し、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、DNA Blunting Kit（TAKARA社）により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0247】

上記により準備した、XSE7由来の14.7kb断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1（TAKARA社）を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法

に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

【0248】

(結果および考察)

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した14.7 kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

【0249】

実施例6 XSF4由来の21.3 kb断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSF4 (図1および5) をNot Iで部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された21.3 kbの断片(配列番号27の塩基12478-33750を含む)を、QIAEXII (QIAGEN社)を用いて精製した。

【0250】

一方、プラスミドベクターpSB200をNot Iで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP (TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0251】

上記により準備した、XSF4由来の21.3 kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

【0252】

(結果および考察)

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した21.3 kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

【0253】

実施例7 XSF20由来の13.2kb断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSF20(図1及び5)をSalIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、DNA Blunting Kit(TAKARA社)により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された13.2kbの断片(配列番号2の塩基26809-40055を含む)を、QIAEXII(QIAGEN社)を用いて精製した。

【0254】

一方、プラスミドベクターpSB200をEcoRVで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP(TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII(QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0255】

上記により準備した、XSF20由来の13.2kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1(TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

【0256】

(結果および考察)

形質転換植物44個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した13.2kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

【0257】

実施例8 XSF18由来の16.2kb断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSF18はXSF20と5'末端及び3'末端(各々、

配列番号27の塩基20328及び41921)と同一だが、途中の塩基33947-38591を欠いている。よって、配列番号27の塩基20328-33946及び38592-41921を含む。これは、最初にクローンXSF18が単離されたが、単離後の増殖の過程で上記欠失を生じたことが判明したため、再度増殖をやり直すことにより、完全型のクローンを単離し、XSF20と命名したことに因る。

【0258】

λファージクローンXSF18(図5)をNotIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された16.2kbの断片(配列番号27の塩基21065-33946及び38592-41921を含む)を、QIAEXII(QIAGEN社)を用いて精製した。

【0259】

一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP(TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII(QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0260】

上記により準備した、XSF18由来の16.2kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1(TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

【0261】

(結果および考察)

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった(図6)。このことから、導入した16.2kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

【0262】

実施例9 XSG22由来の12.6kb断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λ ファージクローンXSG22 (図1および5) をNot Iで部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された12.6 kbの断片 (配列番号27の塩基31684-44109を含む) を、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。

【0263】

一方、プラスミドベクターpSB20.0をNot Iで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP (TAKARA社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0264】

上記により準備した、XSG22由来の12.6 kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

【0265】

(結果および考察)

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した12.6 kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

【0266】

実施例10 XSG16由来の15.7 kb断片に関する相補性試験

(1)

(材料および方法)

λ ファージクローンXSG16 (図1および5) をNot Iで部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された15.7 kbの断片 (配列番号27の塩基38538-54123を含む) を、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。

【0267】

一方、プラスミドベクター pSB200 を Not I で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、CIAP (TAKARA 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0268】

上記により準備した、XSG16 由来の 15.7 kb 断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

【0269】

(結果および考察)

形質転換植物 47 個体のうち、少なくとも 37 個体は、明らかに稔性を回復していた (図 6)。このことから、導入した 15.7 kb 断片のなかのイネ (IR24) に由来する部分である 15586 塩基 (配列番号 27 の塩基 38538-54123) が、完全長の Rf-1 遺伝子を包含していると考えられた。

【0270】

(2) XSG16 内部の 11.4 kb 断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローン XSG16 を AlwNI および BsiWI で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、DNA Blunting Kit (TAKARA 社) により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された 11.4 kb の断片を、QIAEXII (QIAGEN 社) を用いて精製した。

【0271】

プラスミドベクター pSB11 (Komari et al. Plant Journal, 1996) を SmaI で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、CIAP (TAKARA

社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0272】

上記により準備したふたつの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。反応後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAを純水 (Millipore社製装置により作成) に溶解後、大腸菌DH5 α と混合し、エレクトロポレーションに供試した。エレクトロポレーション後の溶液を、LB培地で振とう培養 (37(C、1時間)した後、スペクチノマイシンを含むLBプレートに広げ、加温 (37(C、16時間)した。生じたコロニーのなかの14個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。

【0273】

上記により選抜した大腸菌を、Agrobacterium tumefaciens 菌株LBA4404/pSB4U (高倉ら、特願2001-269982 (WO02/019803 A1)) およびヘルパー大腸菌HB101/pRK2013 (Ditta et al, 1980) とともに供試して、Ditta et al (1980) の方法に従い、三菌系交雑 (triparential mating) を行った。スペクチノマイシンを含むABプレートに生じたコロニーのなかの12個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンを調査することにより、所望のアグロバクテリウムを選抜した。

【0274】

上記により選抜したアグロバクテリウムを用いて、Hiei et al (1994) の方法に準拠し、MSコシヒカリ (BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一) の形質転換を行った。形質転換に必要なMSコシヒカリの未熟種子は、MSコシヒカリにコシヒカリの花粉をかけることにより作成した。

【0275】

形質転換植物は、馴化後、長日条件の温室に移した。移植適期まで育成した後

、120個体の植物を、1/5000アールのワグネルポットに移植し（4個体／ポット）、移植約1か月後に短日条件の温室に移した。出穂約1か月後に、各個体から標準的な穂を1穂サンプリングし、種子稔性（総もみ数に対する稔実もみの割合）を調査した。

【0276】

（結果および考察）

形質転換植物120個体のうち、59個体が10%以上の種子稔性を示し、そのうち19個体は70%以上の種子稔性を示した。このことから、導入した11.4 kb断片（配列番号27の42357番目の塩基から53743番目の塩基まで）が、稔性回復の機能を発現するうえで必須のRf-1遺伝子領域を包含していると考えられた。

【0277】

（3） XSG16内部の6.8 kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

λファージクローンXSG16をHpaIおよびAlwNIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された6.8 kbの断片を、QIAEX II（QIAGEN社）を用いて精製した。

プラスミドベクターpSB11の調整を含め、以後の過程は上記（2）に記載の方法に準拠した。

【0278】

（結果および考察）

形質転換植物120個体のうち、67個体が10%以上の種子稔性を示し、そのうち26個体は70%以上の種子稔性を示した。このことから、導入した6.8 kb断片（配列番号27の42132番目の塩基から48883番目の塩基まで）が、稔性回復の機能を発現するうえで必須のRf-1遺伝子領域を包含していると考えられた。

【0279】

実施例11 XSG8由来の16.9 kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

λファージクローンXSG8（図1および5）をNot Iで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された16.9 kbの断片（配列番号27の塩基46558-63364を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

【0280】

一方、プラスミドベクターpSB200をNot Iで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP（TAKARA社）により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0281】

上記により準備した、XSG8由来の16.9 kb断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1（TAKARA社）を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

【0282】

（結果および考察）

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した16.9 kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

【0283】

実施例12 XSH18由来の20.0 kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

λファージクローンXSH18（図1および5）をNot Iで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された20.0 kbの断片（配列番号27の塩基56409-76363を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

【0284】

一方、プラスミドベクターpSB200をNot Iで完全消化後、エタノール

沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP（TAKARA社）により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0285】

上記により準備した、XSH18由来の20.0kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1（TAKARA社）を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

【0286】

（結果および考察）

形質転換植物44個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した20.0kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

【0287】

実施例13 XSG8およびXSH18の重複部由来の19.7kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

実施例11におけるライゲーションによって得られた所望の大腸菌から単離したプラスミド（XSG8SB200F）を、SalIおよびStuIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された12.8kbの断片（配列番号27の塩基50430-63197を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

【0288】

一方、実施例12におけるライゲーションによって得られた所望の大腸菌から単離したプラスミド（XSH18SB200R）を、SalI、StuIおよびXhoIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された6.9kb断片（配列番号27の塩基63194-70116を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

【0289】

さらに、プラスミドベクター pSB200 を EcoRV で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、CIAP (TAKARA 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

【0290】

上記により準備した、XSG8 由来の 12.8 kb の断片、XSH18 由来の 6.9 kb の断片、及びベクター断片の三個の断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA 社) を用いてライゲーション反応を行った。ライゲーション産物は、XSG8 および XSH18 の重複部由来の 19.7 kb 断片 (配列番号 27 の 50430-70116 を含む) (図 5 の XSX1) を含む。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

【0291】

(結果および考察)

形質転換植物 40 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 19.7 kb 断片は、少なくとも完全長の Rf-1 遺伝子を包含していないと考えられた。

【0292】

実施例 14 cDNA ライブラリーの作成

まず、戻し交雑によりコシヒカリに Rf-1 を導入した系統 IL216 (遺伝子型は Rf-1/Rf-1) を作成した。前記 IL216 を慣行法で温室栽培し、葉耳間長が -5 ~ 5 cm の生育段階で幼穂をサンプリングした。SDS-フェノール法 (Watanabe, A. and Price, C. A. (1982) Translation of mRNAs for subunits of chloroplast coupling factor 1 in spinach. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U. S. A

., 79, 6304-6308) でトータルRNAを抽出した後、QuickPrep mRNA Purification Kit (Amersham Pharmacia Biotech) によりpoly (A)⁺ RNA を精製した。

【0293】

次いで、精製したpoly (A)⁺ RNA を供試して、ZAP-cDNA Synthesis Kit (Stratagene) によりcDNAライブラリーを作成した。作成したライブラリー (1ml) のタイターは16000000 pfu/mlと算出され、十分な大きさであると判断された。

【0294】

実施例15 cDNAライブラリーのスクリーニング

(1) スクリーニング用プライマーの作成

以下の2種類のプライマー、

【0295】

【化21】

センスプライマー

5' -tctcattctctccacgccctgctc- 3' (配列番号76)

アンチセンスプライマー

5' -acggcggagcaattcgtcgaacac- 3' (配列番号77)

を用いて、IR24のゲノミッククローンXSG16をテンプレートにPCRを行った。配列番号76及び77は各々、配列番号27の塩基43733-43756及び44038-44015に相当する。

【0296】

電気泳動後、約300bpの増幅産物をQIAEX II Gel Extraction Kit (QIAGEN) によりアガロースゲルから回収した。回収した断片を、Rediprime II DNA labelling system (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて³²P-ラベルした (以下、「プローブP」と呼称する)。

【0297】

また、以下の2種類のプライマー、

【0298】

【化22】

センスプライマー

5' - agtgtgtggcatggtgcatttccg - 3' (配列番号78)

アンチセンスプライマー

5' - ctctacaggatacacggtgtaagg - 3' (配列番号79)

を用いて、IR24のゲノミッククローンXSG16をテンプレートにPCRを行った。配列番号78及び79は各々、配列番号27の塩基48306-48329及び50226-50203に相当する。電気泳動後、約1900bpの増幅産物を上述の方法によりアガロースゲルから回収した。回収した断片を、上述の方法で³²P-ラベルした（以下、「プローブQ」と呼称する）。

【0299】

(2) cDNAライブラリーのスクリーニング

実施例14で作成したcDNAライブラリーを供試して、約15000プラークが出現した寒天培地を70枚作成した。各寒天培地について2回ずつプラークリフトを行い、Hybond-N⁺ (Amersham Pharmacia Biotech) に転写した。一方のメンブレンをプローブPとのハイブリダイゼーションに、もう一方のメンブレンをプローブQとのハイブリダイゼーションに用いた。一連の作業は、製造者の手引書に従って行った。

【0300】

ハイブリダイゼーションは、250mM Na₂HPO₄、1mM EDTAおよび7% SDSを含むハイブリダイゼーション溶液にプローブを添加し、65℃で16時間行った。洗浄は、1×SSCおよび0.1% SDSを含む溶液により65℃、15分で2回行った後、0.1×SSCおよび0.1% SDSを含む溶液により65℃、15分で2回行った。洗浄後のメンブレンをFUJIBAS1000 (Fuji Photo Films) で解析した。

【0301】

その結果、プローブPおよびプローブQのどちらでも陽性を示すプラークが8

個見出された。そこで、それらブラークを単離し、製造者 (Stratagene) の手引書に従い pBluescript にサブクローニングした後、末端塩基配列を調査した。8 個のクローンのうち、6 個のクローンの末端塩基配列が XSG16 の配列と一致した。それら 6 クローンの全塩基配列を決定し、結果を、配列表の配列番号 69-74 に示した。

【0302】

配列番号 69-74 のいずれの配列も、配列番号 75 のアミノ酸配列 1-791 を持つタンパク質をコードすると推定される。具体的には、各々配列番号 69 の塩基 215-2587、配列番号 70 の塩基 213-2585、配列番号 71 の塩基 218-2590、配列番号 72 の塩基 208-2580、配列番号 73 の塩基 149-2521 及び配列番号 74 の塩基 225-2597 が、いずれも配列番号 75 のアミノ酸配列 1-791 をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号 27 の塩基 43907-46279 に対応する。

【0303】

配列番号 75 のアミノ酸配列を、トウモロコシの稔性回復遺伝子 (Rf2) の推定アミノ酸配列 (Cui et al., 1996) と比較したところ、N 末端の 7 アミノ酸残基 (Met-Ala-Arg-Arg-Ala-Ala-Ser) が一致した。これら 7 アミノ酸残基はミトコンドリアへの標的化シグナルの一部と考えられている (Liu et al., 2001)。これらのことから、今回単離した cDNA は Rf-1 遺伝子のコーディング領域を完全に包含すると考えられる。イネ Rf-1 とトウモロコシ Rf2 とのアミノ酸レベルでの相同性は、前述の領域を除いては見られない。遺伝子産物がミトコンドリアに移行してからの稔性回復機構は、両者で異なるものと推測される。

【0304】

また、今回単離した cDNA の配列を IR24 のゲノム配列 (配列番号 27) と比較することにより、エキソンとイントロンの構造が明らかになった (図 7)。その結果、植物体内において、スプライシング様式およびポリ A 付加位置を異にする種々の転写産物が混在していることが示された。

【0305】

【配列表】

<110> JAPAN TOBACCO INC.

Syngenta Limited

<120> The rice restorer gene to the rice BT type cytoplasmic male sterility.

<130> 021379

<160> 79

<210> 1

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R1877 EcoRI marker sequence.

<400> 1

cattcctgct tccatggaaa cgtc 24

<210> 2

<211> 33

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R1877 EcoRI marker sequence.

<400> 2

ctctttctgt atacttgagc ttgacatct gac 33

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G4003 HindIII marker sequence.

<400> 3

gatcgacgag tacctgaacg 20

<210> 4

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G4003 HindIII marker sequence.

<400> 4

aatagttgga ttgtcctcaa aggg 24

<210> 5

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of C1361 MwoI marker sequence.

<400> 5

aaagcaaccg acttcagtgg catcacc 27

<210> 6

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of C1361 MwoI marker sequence.

<400> 6

ctggacttca tttccctgca gaggc 24

<210> 7

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G2155 MwoI marker sequence.

<400> 7

gaccaccaat taactgatta agctggc 27

<210> 8

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G2155 MwoI marker sequence.

<400> 8

tttctggctc caataatcag ctgtagc 27

<210> 9

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G291 MspI marker sequence.<400> 9

ctgctgcagc aagctgcacc gaaccgg 27

<210> 10

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G291 MspI marker sequence.<400> 10

acattttttc ttccgaaact tccg 24

<210> 11

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R2303 BslI marker sequence.

<400> 11

atggaaagat acactagaat gagc 24

<210> 12

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R2303 BslI marker sequence.

<400> 12

atcttatata gtggcaggaa agcc 24

<210> 13

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10019 BstUI marker sequence.

<400> 13

aacaatctta tcctgcacag actg 24

<210> 14

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10019 BstUI marker sequence.

<400> 14

gtcacataga agcagatggg ttcc 24

<210> 15

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10602 KpnI marker sequence.

<400> 15

agctgttgag agttctatgc cacc 24

<210> 16

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10602 KpnI marker sequence.

<400> 16

tagccatgca acaagatgtc atac 24

<210> 17

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S12564 Tsp509I marker

sequence.

<400> 17

ctagttagac cgaataactg aggttc 26

<210> 18

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S12564 Tsp509I marker sequence.

<400> 18

tttgtgggtt tgtggcattg agaaaat 27

<210> 19

<211> 2240

<212> DNA

<213> Oryza sativa L.

<223> PCR marker G4003 HindIII

<400> 19

gcggccgctc cgggaagtcg agcgagtaga cgcccctgac gccgtacgcg tcggcgagcc 60
gcagcggcgt ctctggcggt gtgaaggaca gcccgttcag cgtcgcgcgg cgccgcccgt 120
tgatcgtcac cggcgccgtg ctccgcagca ggtacgcctg cgtcacgttg atcgacgagt 180
acctgaacga tccctgtggg ttccgcctcg ccgctccggc actcaggttc cacctgcccc 240
atgcaaaaaa ccaaaaccca aaagcttaat gcaataata catcattcca cgtatttaaa 300
aaaataattt ataggtaaaa tttttataat gtatttttagc gacgtaaatg tcaatgctga 360
gaaataaacg ataatacttt aaatgaagtt ctaaaattta aattttggca tcggttgatg 420
ttggataaag aaaacgatgg aggctagtaa ttttcttct tttttaagta tctagattgt 480
catatattga attttccagt ttttcatccc ttgaggaca atccaactat tattttcctt 540

ttcttatgta aaaggttgaa caacatatc aaacataaaa aaataaaaatt aaatgaaata 600
 aatttacaat tcataaaaatt tacagaattt atgttaagaa aatattcaaa cttagataat 660
 aataaagcaa caaaatcgta ctaaaaagaa gtataattgt acattgtata ctactactcc 720
 tacaatttta gacttagaat ttttaatttc ctgaaatcta gtaatgcat ttttttcttt 780
 ctagttgaac cagacagtaa gttaactcg aaacttataa gctaagagc gaagtcgggc 840
 aattcactcg tacctgacgg agcgagcttg gttcatggag aaggacttgt cgaactggc 900
 ctggggaggg tcggggagcg ggccggaggc ccgcccccg gagttggagt agcggaggac 960
 ggcgacgccg gcgacgcggc gccacacggt gtcgttcacc atgcgcgcgc tggcgacgac 1020
 gtagtagtcg gagctcgcgt tctggtcggt ggtgacgagg aaggagtagg actggccgac 1080
 gtggacgtcc aggttggtgt agttctgctg cgtcgtgtag gagccctccg tctccaccag 1140
 caccatgttg tgccctgga tctgaagtt gaggtcgtc gacgtccca cgttgtgcac 1200
 tcggatcctg tacgtcttgc ctgtgtcccc acaccgacgt cgccgacaca cgcgcaaaag 1260
 ataatagact cattgtaagt aggtagtaac cttctccgtt tcatattata aatcgtttga 1320
 ttatatTTTT gttagttaaa cttctttaag tttttttct ataaacttaa ttaaacttaa 1380
 agaattttta taaaaaaaat caaacgactt ataataaaa atggatggag tagttgcac 1440
 aatttgtgga tgaagcaaac aagattatat ctttttcacg agggtgaaag tattcagtga 1500
 acaattcgtc agtttcaagt ttcataaat cggacagggt ctctgaaagt ctgtattttt 1560
 ggtactgttg gattgactac tctggcttct gttgtcacat cttttgtatc ctagtttcgg 1620
 taaaaaaaat tttggcattt ttactcctat cgttgatctg ttaactgaa accattgcat 1680
 gatatactac tagcagacaa aactggtgaa aattcacgag aatgaacttt ttgtcagtta 1740
 agcattagcg gacagcttca gtaagcagag caggctgcct taaggcttaa agcactatct 1800
 tccacaacac tttgtcctac aatcaaattc caaatttact atcacaaaaa gcgaaggaaac 1860
 taactaaacc ttactcctac tagtactact gctatgacta tgaaacaaga ttccaatcca 1920
 aagaaaacac agtgctcgat cagcatgata aaagcaacga aacctgctca tccagctgcc 1980
 aaaatgccac cccactgact ctacgtacgt actacgtatt gacgctgtaa aaaactagcc 2040
 gtagtacaga gaagaggacc caaagtttcg tcaaaaattt ttttttacc ggatccacat 2100
 tgatggtctc gtactcgatg ccggccggga caaggctgtc gttgtacctg tacgggccct 2160
 tgccgttaat cagcagccg tccggcatcc cgaggtcctt gccactgtcc agcatcttcc 2220
 tcagatcctg caacgaattc 2240

<210> 20

<211> 2601

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker C1361 MwoI

<400> 20

tcttgctgag atccaagttg cggtaacttt gcccttttct tttttcttc tcttctgaat 60
tttttcatgg tttttgggag agattttcgt aacttgattt cagttctagg aaaaggccac 120
cttgttcaaa cagggtcttc ttgaaaggga tcaatttgct aggagtacat gattctaaaa 180
gcgatttcga aataaaacac agttctcgat ctcatacctg aaaacaaaag gcccatactg 240
tgtaaactgt gattatgctt ctgttaaatg ggatatttgt acaaaattga cgccaaccac 300
ctataaacag attgtgagct tttatcttag taaaataaaa tgtgacattc tactcagtgt 360
tcagtgatcc gatgtcgtct cttctgcgta caacttctaa cagccgtttt cggtagtaca 420
aactagcgaa acaccaaaaa cgcagcattt gagttctgga atacgctgaa attgttagaa 480
tcaaccacga aaccaaatac attgttcaga aacgttgcaa cgagataaaa cacaagaact 540
tgttttaaca aagcatcagg acagtacata tacggttaca acaccagtc tttatacagt 600
tctgctggag ttccatctac tggctgtcat tgtatctcag gacagacagg ttaacatagg 660
tacaacacaa ttacaggcta aaccgaagcg aactacactg tcagcatctc taacagtatc 720
gtcaagcaag cttattttaca gctgctctag taaatttaca acgtccctgg cagaatccct 780
ctcgtttctg gcagcgacga ggcacggtcc atggccttag caggacatct caccgctcag 840
ctgcatagaa agcaaccgac ttcagtggaa tcacctctg ctctgcaaa aaagttgggt 900
cgatcaatca cgcgtttaat ccaaaacaaa atgggtatta attatgctag cctatgaagc 960
tacctcagag ttctctattt gctctgcagg gaaatgaagt ccagtggaac agttctcaag 1020
cacctcaggg ctcttcatcc atgctttgtg tgcttcaatg gctttcagct tatagcgaaa 1080
catctgcgat acggatctaa aattaaggat gtcgacaatt acttaacaca acaataatt 1140
gaagcaggtc cagttaaaga aaagtagcag cgaagaatag cactctgaag tctgaacctc 1200
agataaagaa atggttggtt tttccagttc atctccctca acatggattc cagtaccctg 1260
gcattctggg caaaggatgg atgttatttt cttaggtgca tttttgcct ttcttctcgt 1320

attgcttttt cccttgcttg caattttgtc tgctagcatc tcatattggc ataaaatagt 1380
 ccagtgcaca aggcaagaag tgtgaaacaa atgaaatgcc tgcaaaatta gccgtacaaa 1440
 gtcattggag gttgcagcag aatactacaa atttttaag aagaaactat acactgtcta 1500
 tgttttgctt gaaatgaatt caaccacttt gcattatacg gtttggaatc cctggtttgt 1560
 gagaactgta attccattac aacagtgaag aagttacat aactaatgaa tggaaattag 1620
 tcaaatgcct aatttttttag gtttgcttta atttatttat ctgtgagaaa tgctaagcat 1680
 gtcatgcgtt gctatcttca agaaatacta agaaactgca aaggcaaaga atgtttgaaa 1740
 taacttacc cgcttgagtt tctactgctg caggctagat ttctgtctt gcagttgagc 1800
 aaggtagcta catccttttc aagaagcatt ggtcgccac aaatatcaca agctttctca 1860
 gcagcaaggc gcttctgctt acgcaactcc ctctcatag atttggtgga taagaggcca 1920
 acttgaagat tgtgtgaagt acctgtcggg gaacctgtta tgatagcttg gctattgtca 1980
 tgggcggagc tgctttgctc attcgactcc tctgaagatg cttcttgatc tgaaaatgac 2040
 ttctttcttc tctttccacg gtgtccagca tcatcaatca cgaagaaaga tccagcagag 2100
 ataggaaggt cctgatcatc agaagaccac ttctgcca actcaattgt ataagagaag 2160
 ttgacaatgg caaagtcaga ttgtcatag gtgtcacact catccaagcc atgggagcca 2220
 tctgtccta cccaagcaca ccagatcttg ctaatctttt tacttcttt gctagcttcc 2280
 cataacctgt atgcaatatt tccatatccc aaaagatgca caggcaaate cgaaacaaca 2340
 tccttttagca atacactagg aataacgaga ggaccgtcag ttccactttg gtttgacagc 2400
 acatgatctt cagatacaga agcagttcta ccattaccat gcgcatttgc accacggcgt 2460
 gtgccttttg cgccattgag agagctagaa tcatctctca acctcgaagt cacttcagt 2520
 tcgttcgtg gaaccagagc cagctctctg gtgttctgag agctcgagtc cagcaagagc 2580
 gggtccttct cgcgcgagtt g 2601

<210> 21

<211> 1333

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker G2155 MwoI

<400> 21

ccctctgctt gatccagtgt acatccatgg gttaggacag attagttact cagttaatta 60
 agtgtgagac tggaaaaaaa tatctgacgg cagttttata agttgagtga ttgaactagt 120
 gaaagttcag ttaactgtca acggctgtag atttgggatg gcagactggt ctgagtcaaa 180
 atgaagcttt tactgtgcgt ggttaccagg tgcagtaaaa taatttcaga tctaatacgca 240
 gtaaaaaaat gtagtactat atgttaagac gagattggtc ggtcaaaatc tatctggccc 300
 ttacatctc ccaaagtta cctcagttgc aggtggtaaa aaaaaatcac tcgtttcacg 360
 tgatgtcggc agatcatgga ccatgtctca aatgctgaaa ctctgaacaa tcaacaaaaa 420
 aatccaacca gatgagctgt gcaactgata attgatcatc aactatittg caactcatct 480
 ttcatgtaga tggaaattca atcccgaaga aataatgaca gcaaaatgct gcgatcctga 540
 agaaaggatg gcggcaaaat ggcagcgata aaaaaaaat ggttggttac tgaagaatta 600
 tttgtgcagc agttgagaca gtagcaagat aagagctagc taagctagct aggtagagtt 660
 ggatggaaga gtagtagtat gagatagagc atggagcgcg acaactcaag tggatgctaa 720
 agtaaaaggc attctcttct cttgtttgga atcagaaaag aaaagaaaag acttgagctg 780
 cttggctgga atgtttgggt ggatcatgcg cgctctcctt agcttagctc gccaaagaaat 840
 cctcgcttca tctctctcaa taattcaaag ccacgagctc tctgctcata tccagtgcga 900
 cgattcccgt taatgcaaat gcattatata cagttcgaaa tgttacaatt cttgcgtttg 960
 cagcaagcca gcaagtgggt tgaattgttt aatccctcgt gcatttcaac gaaattctct 1020
 cacaaattcg cattgacttc tttcttagca caattagtaa gcagtgacaa ataaagaatt 1080
 tttgaacagg atgtctttcc aaggaagggt agatttttta tgtggatagc aaggatcgcc 1140
 tttccttagc atgaagagaa tgtgatcaac ttacacctt gcttacgatt atggccttaa 1200
 tttttgatac cctaaacagg agcacatcac atgcatgtcg acctgagacc accaattaac 1260
 tgattaagtt ggcatctcag atgcatccgt cagttacatg atcaggtgat cgatggatca 1320
 actgtaggtt tca 1333

<210> 22

<211> 863

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker G291 MspI

<400> 22

cgaacaggat caaaagtaga cgacgagggc atttagaagg agaggaattg tatttgttcc 60
 cggatatttaa tttttaatt tgtggtcgga agtttcggaa gaaaaaatgt gctcatgagt 120
 gattattggc tctgaacacc aacctctctt ttcgttgatt ccttctgagg tgttgggtgt 180
 tgggacacga tgctgccgcc gacacgacac cgggttccac aatacactaa tctactcgcg 240
 acaccttcat tgaactgcat ataattattt agaaagtcca ttaacacatc ttataaaacc 300
 ttgttgaatc atataatcat tctataaagt ctatttgaac atcttatgaa aaaataagat 360
 ctgacctagt cgttacactc tcttacattt tccattagcc taactaatc cgtgcaggaa 420
 acgccccaaa ataatagtac caatagtcca ctaatcccggt gccagaggcc gccaatgatt 480
 agtgattaac ccaaaaaaca taatcatcat cacacgccgc taatgaccag ctctcgctta 540
 gctcatccca caggcggccc ccacacgcca ctctgccat gtgggcccac ctttcacacc 600
 cccaccaa cagaaaaaaa actcccccaa aaaaaaact tttaatgctt atctcgcggc 660
 agtataaaag gcgacccac caccacaca caatcacagt cagcgaccca acccaaccg 720
 agccgaggag tcgagtcgtg tgaaaattac gaaattgcc ttcgactcca ccaccaccac 780
 ccaccggcga ggcgaggaga ggagaaaaat tgggaggaaa aaaaaaggga aaaagaaaaa 840
 gggtggagga gatTTTTgcg aag 863

<210> 23

<211> 1510

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker R2303 BslI

<400> 23

tgccatgaag acctatggaa agaatatctt cttctcactc tgtgaatggt gagtttactc 60
 tctgtaacat ttagggctag gtcgaaggaa catgaagcat tgctgattca ctccactgtg 120
 tttttttttt ctgtataggg ggaaagaaaa tcctgtctaca tgggcaggcc gcatgggtaa 180
 cagctggaga acaactggcg acatcgccga caactggggc aggttctact catcctctct 240
 ttaaccctgt ttacatagtt cttgagtttt tcagtactga tcgtaattgc cctgttattt 300
 cagtatgaca tctcgtgcag acgaaaatga ccaatgggct gcctatgctg gacctgggtg 360

atggaatggt aagaacttga gatgtatctg ttcctagggt gcttaacat ttgagagctt 420
 caaaatgata aacatatgtt tctgctgtgc aatatcagat cctgacatgc ttgaagtggg 480
 aaatgggtggg atgtctgaag ctgagtaccg gtcacacttc agtatctggg cactagcaaa 540
 ggtaccatag catgttctat gtactaataa ttttgctgca atgttgaact tctttgcatt 600
 tcctcactgc aagttttgct tgaattgttc aggctcctct tttgatcgga tgcgatgtgc 660
 gctcaatgag ccagcagacg aagaacatac tcagcaactc ggaggtgata gctgtcaacc 720
 aaggcaagcc ttctcagttt cacatgctta gatttagcca tacctcttgg atatttcacc 780
 atactcataa tgtaactctc tgaacagata gtctagggtg ccaaggaaag aaagtacaat 840
 ctgacaacgg attggaggta tcccttcaat ggcttccaaa tttgcagttt ctcatgtgcc 900
 cataagcctt ggcatgatca tgactaactc tgaagctgac aatactttgt gtaaatttgt 960
 cggtagggtt gggccggggc actcagcaac aacaggaagg ctgtggtgct ctggaacagg 1020
 cagtcatacc aggcaacat cactgcacat tggtcgaaca tcgggctcgc tggatcggtc 1080
 gcggtcactg ctctgtatct atgggcggta aagcctttgc tttcttcaga gctcaaagta 1140
 gaacatcttc tcttcagaat tcagagtcca taacaaattt ctgtcaattg tgcagcactc 1200
 ttcgttcgcg gctcaggac agatatcagc atcgggtggcg cctcatgact gcaagatgta 1260
 tgtcttgaca ccaaactagt cagcaaagaa aagcagcaca ggtagtacg tgtccggcga 1320
 atacagctaa attgatcagg attcaggaag aaggtttgca atttgcaagg attggtagag 1380
 ctggaaatgg gatgccattt gggtatgtat gtagaaataa gctgtaagcc tgtaagcgta 1440
 tatgtaatca gccgtcaaat gctggcgagt gtatttctga agtttgcaac gaaagttgca 1500
 gcaataaaaa 1510

<210> 24

<211> 1016

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker BstUI

<400> 24

tggggattct tttctttaag caatttaaca ttattgtcct aacaatatac acaatattgg 60
 tttttctttc agtatcaaat aattctttta cttttgaaaa cacatttgca atgtgttgga 120

aacacaatta tatcttgcac ttccttttgg aaattttaatc atttgaaaac tgattcgcgt 180
 ttcatggctg taatcttctc ttgcgaacat cgctctttct ttgatggttc tctgttgaga 240
 agaagagcaa ccaagtaa at tttcgaaatg tttttttgtt ctttctattc accattgcag 300
 gttgtcaaag ccatcgagaa ggccataccg attccgagag cgcaacccat tgccttggat 360
 ggcccagcaa gggaagagct gaaggccatg gaggcgcaga aggtcgagat cgaccgcacc 420
 gcggcgctcc aggtgcgccg tgagctttgg ctggggctgg catacctcgt cgtccagact 480
 gccggcttca tgaggctcac attctgggag ctctcatggg atgtcatgga acccatctgc 540
 ttctatgtga cctccatgta cttcatggcc ggctacacct tcttcctccg gaccaagaag 600
 gagccctcct tcgagggtt cttcgagagc cggttcgcgg cgaagcagaa gcggttgatg 660
 cacgcccggg atttcgatct ccgccggtat gacgagctcc ggcgagcctg tggcctgccg 720
 gtggttcgga ctccgacgag cccctgcaga ccgtcgtcgt cgtcgtcgtc gtcttcgacg 780
 caggagagcc attgccattc ttactgccat tgccaatgat ctttgtgctg ttctgttctg 840
 ttgtcagaat tttttcatgc ccagtttatg ggggttaagc tagcttctcc attgtaccgt 900
 tctgatgtgc ggatgatgag atgcaaagca tagtttgttg aagagatgac aaggcagatt 960
 ttagcttgaa aacctggagg tgagaaaaaa aaatcctgat gtgtttgtgt gtgtga 1016

<210> 25

<211> 676

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker S10602 KpnI

<400> 25

accacattca tatgaagaaa ttaacggtgt ttatcatgagg aatccaacag tcgctgaatt 60
 ggtggaaact gtggaattct tcttggctga ggtaaccaat catcacttca ccacaatgca 120
 caagtttgta gcttactact acagtacttc taataagttt tgtctgttga gatattattg 180
 ctgatttcta tgcatgggtca tctttttgac aggccatcca gtcttatcgt gctgagagtg 240
 aaactgagct caacctggca gctggtgact atatagttgt ccggaaggta cggccctatc 300
 ttcccattgg acatgtttct aaccataaac atatctttgc tggacttttg tgggcaaagt 360
 tggctacact aaacttgtgt tcattaacct gctcaatcag gtgtcaaaca atggatgggc 420

agaaggtgaa tgcagaggga aagctggctg gttcccttac gactacatcg agaaaaggga 480
 ccgtgtgctt gcaagtaaag tcgcccaggt cttctaggcg ttcaatgagc catacataca 540
 taaccctggt gttgtacact gtattatgat cgttcgtgat cttcaaagac cctctgatca 600
 gagaaatcac aaatatcttt ttgttctatt attgtcatta tcactacccc ttttgtcaaa 660
 accagtgcag cctttt 676

<210> 26

<211> 1059

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker Tsp509I

<400> 26

gcgagatcat gaacttgatt ttctggttgc catattgggc ttgcttgta acctttaga 60
 gaaggatagc cttaataggt aagtcctca catgcttcct tccatttgct caattcatat 120
 cagtgttact gttctggcag ttccttgggg tcaggactca gaaacatcca attaatgttc 180
 atgttctctt aacgactcag aaatacttta taacctctcc acagggtacg gctttcatct 240
 gcccggttgc ctgttgatct atctcagaat ccacagagtg aagagacaca gagagatgtc 300
 atagcactcc tctgttctgt attcttagca agtcaagggtg ctagtgaagc ttctggaact 360
 atatcaccgg taattcaaaa ttcttcaagt tccttttgta ttagattat atctttgtaa 420
 aactcggcat ttattacctg ctctttgttt caaaaagcag tattttatct tgctccttag 480
 cataggtcag cagaacagtt gatcttattc agaaaacaat attttgcatt taacatactg 540
 ttatctatga gatgaaaatt aatgcatgtg taataatgtc aatgataaat atttgctatc 600
 tgaatccagt ctaccaactc tagtttagacc gaattactga ggttctatct caaagaataa 660
 tttagtgcac catttggtca actactatga agtaaaatgg tattcccttc tattgacatc 720
 gggttagaag tgaaaggcca tcttaatgcg atgttctcaa tgccacaaac ccacaaattt 780
 cattaacaca tacagattat tattaacata gctataaatt ggatttccag aagcttgagt 840
 tgaatttatt ttgttacaat tgaaagcact gggaacatta gcattttttt ttagttcttg 900
 gttattgcaa tttataatgt tatacagaac tgtgtacctc acaatgcatt cattatgaca 960
 ttctatgaac catttgattg actgttgctt gtaaacaaca ggatgatgag gagtctttga 1020

tgcaaggagc acgggaagct gaaatgatga tcgtagagg

1059

<210> 27

<211> 76363

<212> DNA

<213> Orza sativa IR24

<400> 27

gatcaactaa caacctcttt gcagcaaaaa agcatacaca caagtgttg tcttggcctg 60
gggctctgca gatggactga tactctgacc tgcagtgggc ttgggagcta acaatggttt 120
cattcttttt ttttttatgt tttcccctgt tgtttttgct catgttttgt gtaatttttt 180
cttctcatct agcgatgtta ttttcttag catgatggga gtagccctcc ttttttttc 240
tctaattaag tgtaaagtag caacagcata gggatgaatg ttcagtgtag tgtgtggtgt 300
ttcagttatt cagagacgtc catacagttt gtacctgtg accacacgtc ttaatctgat 360
gaagcttaga ataaatcaca tgtagcaat gcaatatcat ctgcgtcttc tctcactttg 420
gtggccatca aattctgtgt agaagtgtat ggttggtgtg ctgttgcaaa tgccgtattc 480
cgctctgttt tgtggaagtt aagaagtccc tagttgaaat accgattttt catgatctcg 540
gagattgatg caactctgat tgcagcattt ctttttatta gaatgtacac tccatgctat 600
catgatgttt attgtttagt actacaagat ttggttaacc attattttta tatcataata 660
atattataaa atcttggagt aacaagttca taatacatga tagcataact tttgaggct 720
agtctatgta tattgtctcc ttgttttta aactaagcac tcaataaatt attgatggct 780
gtaattttct gaagtttca ccggtttcgg cccgtgcttt ataaatagct tcggcacaaa 840
agacaaaacg gtccctccaa cacataaatg gttgagttta cgttttcatt atctttgta 900
aatcaagtc caccacgtag acactcataa caaaagtttg aatatacctca gaaattttga 960
cttgagtcta tcttaccttt gatatcggac atccaaccct ccctccctcc ctgaacttta 1020
tattattcat attacacctg aactttatat tattcatatt acaccctgaa gtggttttca 1080
tttaattgca tacatgctga aatagtttga caacgtgaga tgcactaaaa atctacacgt 1140
tcgtcttaag ttgcaattca ttttatccct tttcttttc tctcttacct aggaatatca 1200
atagtactaa ttcacattac aatatagtat aaattggtta tcgattattg gcaatatact 1260
atattaaata ttcaaaacta gtcatttaag ctgccaaata agtaaaccac tatcgaaaac 1320

cacaatataa atggcattac aaaacttagg gggttgaata tccaatttta aagttcatga 1380
tgctagagga atttctatca aaagtttatg ggtacatatg gactttttcc tttttaaag 1440
aagctattct tgtcgtaaac gttaaataatt ttttgtactt tttttttat gattgaaaaa 1500
aaaacttagt tttcaaaatg attggtctgt atacaagcat caattagact taataaatc 1560
atctaacagt ttcttggcag aaactgtaat ttgtttttgt tattagacta cgtttattat 1620
ttcaaatatg tgtacgtata tctgatgtga caaccaaacc caaaaatttt ccctaactcc 1680
atgaggcctt acagatatat ttgatgggtg taaagttttt taagtctttt gggtgcaaag 1740
tttttaaagt atacggacac acatttgaag tattaaatat agacaaataa caaaacatat 1800
tacatattct gcctgtaaac aacgagacaa atttattaag cctaattaat ctgtcattag 1860
caaacgttta ctgcagcatc acattgtcaa atcatagcgt aattaggctc aaaaatattc 1920
gtctcgtaat ttacatgcaa actgtgtaat tggttttttt ttcgtcaaca tttaatactc 1980
catgcatgtc caaatatttg atgcgatctt tttggccaaa ttttgttgga atctaaacaa 2040
ggatcaaatt tgctgaattt ttccagacgt cacggcttgt tcatccatcg ttcgcatcgc 2100
gattcgccac cgacgccttg gtttccaacg aattttatca tccgcttaaa tacatccaaa 2160
gtcttccatc gccatcggcg gccaacggcg accgctccgc tctacccaat ccacccatcc 2220
actcgccgcc gccccctgat ccaaagcctc cgccgcgccg ccgtcgagag gaggaggagg 2280
aggaggagga ggaggcgtga gcccctatgg ggaccctcct ccggccgcgt ccgcttgccc 2340
acgccgccgg cgccggcgac gccacgccgt cgaccgcgca cggtagccac gcgcctctcg 2400
agaggcccc ccccccgcc gctcgtgat ctctcttctc atcctgtttg ggtttggtt 2460
tgtgatttgg gtgttttttt tttttccgca gcggtggtgg tgagcggtgg ccgcggccgt 2520
ggcgtggagt gccagccgca tcgggtgcgc cgccgcccgg gtccgcaggt tgcggtggcg 2580
acggcgagct ggaggaggcg gagggagacc gtggtgagat cggatttcgc cgctggtggt 2640
gccgctacca tgggggattc gccgcaggcg ctctcagggt tgcagcctcc tccactctct 2700
tctcgcaaaa tgtgttgcta tgttcctctc gctgggctgg cctcatagcc attaatttag 2760
tttgctggaa cattacattc ggaacgttgt tggcaattgc ttgacaaaat gtggaattgt 2820
ggaggggaga aaaatcgttt gaacctgcag tgacaaaatt gccatctata attttaaacc 2880
tgaagggtgtg gaaatcaaac ataatcattg ccagcacatc attcttggtt accaccttga 2940
catattgttg gcttataaca gttagctcca caccaacttg gaagggtgtc atggaatgta 3000
agtataaatt gaggataact ggcagttgtt aagactttct acagaacttg tagcagctaa 3060

aactagctat tgtgcattta tgtttcatgg aatttgagcg gcaatggata tttcttacta 3120
agacgtataa tgcaaaaaaa aaaaaaaac tatgtctatg cagtttacat gtaatgtgcg 3180
gatgcaaata aaatcatgtt catggacaaa ctaatgggat tcataccaaa ttccagaatt 3240
gcatttctta tgtggttact tttgtttgtt gatttggtta ccagacatcg atgtggtttc 3300
aagggtcaga ggggtttgct tctacgcggt gactgcagtt gcagcaatct tttgtttgt 3360
cgccatgggt gtggttcac cacttgtgct cctatttgac cgataccgga ggagagctca 3420
gcactacatt gcaaagattt gggcaactct gacaatttcc atgttctaca agcttgacgt 3480
cgagggaatg gagaacctgc caccgaatag tagccctgct gtctatgttg cgaaccatca 3540
gagtttcttg gatatttata ccttctaac tctaggaagg tgtttcaagt ttataagcaa 3600
gacaagtata tttatgttcc caattattgg atgggcaatg tatctcttag gagtaattcc 3660
tttgccgct atggacagca ggagccagct ggtatggctg tagtctcatc cctgctttct 3720
taagtagaca tatatacatt tacagtattt ggtaaataaa caagatttta tgaatcatat 3780
atgatttttg ggaaaacaca aaactctctt tgttggctgc cttgaacata gttctgttca 3840
cacagttata gcaccttctt taaaatgaag aactttgttg catacacata aggccaaacc 3900
acataatgaa tttgtttat ttctatctt gaatgttagc atcgtttttg tttaatgcat 3960
gatgccttc ctatatattt gtagtatgtc aacattgtat tccatgctga gcataacaaa 4020
tggtttgtta aaattcagga ctgtcttaaa cgggtgtgtg atttggtgaa aaaaggagca 4080
tctgtatttt tctttccaga ggggactaga agcaaagatg gaaagctagg tgcatttaag 4140
gttcagtaac caaacttagg ttacattaca tctaagaga tttttatatt cagtatataa 4200
tgttaacctt ctcattggtg actgacgtgg ttataaatgt cccagagag gtgcattcag 4260
tgtggctaca aagaccgtg ctctgtgat acctattact cttctcgga cagggaact 4320
gatgccttct ggaatggaag gcaccttaa ttcaggttca gtaaagctca ttattacca 4380
tccaattgaa gggaatgatg ctgagaaatt atgttctgaa gcaaggaagg tgatagctga 4440
cactcttatt ctaaagggtt atggagtgc ctaaagaaag atggtgtttt tttttattat 4500
atggaacctt ttcaaaggca cagacaggct ttcaaggcta agcttggttac aggtactgat 4560
actagttact aattactttc gtaatcagta taaataagct tgtgtagtgt aatggcattg 4620
tacatttctg cacttggtta atttacagaa gaggcaagta atattttaga ggattgagtt 4680
tattcaccca gtcatatagt tgaagaggca agtaacctgt aagagaggac tgaacattaa 4740
cacctcttgt tcgattaaaa atgaccaaag agcatcaaac atgtattcga ggctgttact 4800

ttagatatgg cccattaatt tgttttagttg tctatgtaca tcctagttgg tgtaaagtcc 4860
 agttaccatt tctatgatct aaaacaatca actcttttag tatattttca aaaacgaaat 4920
 tcagtacaca tgtatgaatc ttaatatctt tctctagctc gttacaaaag caacaaaggc 4980
 accgtgtcag ctgggttcaca ttagctagtt tgtacttagc attatccact agcaccttat 5040
 tttcatgcat atcatgctaa tttgcttgcc cacgttgagt gggaattttt ttcattgtttt 5100
 ataatttata tatgttttag acttctagtc cacaatttat gtacttcattg ttcctgagcc 5160
 tctagtatgg ctgatagcag actagggtgct gagggtgctc cttttttgca gactgaagag 5220
 agaagaaata caagactgtc cattgttagt cagatttgta aaaatagact ctgatgtagt 5280
 ttacttttgc ccctatttta tttttaacaa tacaatatata taacagatcc taagaactta 5340
 tcttaattta ggagaagttg ctggtttcat taaattaaat tgtgaagtaa aaatgtgtgc 5400
 tcgagtctgt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atgggtgtagg gcaggccagg 5460
 attgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcagacg ttattgctaa attttttagct 5520
 acttgcagtt agtgctgcca cgccgattaa gcagtagaac aaagtagttt tgtcgtgcac 5580
 aaatgagtta tatttcattg gaaatcgaag cgaaaacgaa tcaaaagtta gaagaaaagg 5640
 ggaaacttgg taattactcc ataaagagag tgcattttat tggtaagatg gtatccggaa 5700
 gctgtgagct ccgggctgta tgtattctgg caaatttgat atgagatgct cgattattgg 5760
 ctttaagttag cgatatcaaa tttggggaag caccaaagga attattgtga aggagttagt 5820
 ggtgcgtgac gttatctgct aggttcaaat ccttgtggct atgaatattt atctgctagg 5880
 ttcaaatacct agtgactatg aatattaatg ggtaaggtaa gggatttatt gtaatttta 5940
 gtttctttta gattgtgcca tcggacgcca ttcggtaact gtaataatgc tttgtattgg 6000
 attcacttgt gttacatgca cgcactaaac atgtgcttta ctttttcattg tgtttttgcg 6060
 ttctgggcta gaaactcaaa cgttgaattt tccatggtct gctcaacttg acaattactg 6120
 cgtgtcaagc gatcttatac gcatactatg cgcacaagtg attgtatacg gatatgatga 6180
 cagtataacg tgtgatattg atttttttta taaaaaatg atgttcattt ccttgatgaa 6240
 ggaacaaaga ctttttttaa agaagggtta ttactaaaaa caaaaatgac aaaaacaaaa 6300
 tatcagtgca catggcaagt gtgctcggca attttttctc tgtactttta acaaaaatac 6360
 ttctatatgt tcttttttat aagggtggca caaatctttt aaatgagcca aatatctaca 6420
 ttggatttat taaaaactgt ataaattata atttatactc tgaaagggtg tgtgcatctc 6480
 tcttggagaa aatgtataag ttgcaaacaa acattaatcc acgttatgta actttttttc 6540

gccggaaagg ccgaaggagg cctgacggag cgtggggctc ctcaccggga gaccgcgcag 6600
 gcccccttt gccggttcgg ccggggactc aggggtgaaat tctaagctct ctgtatgtgg 6660
 aaggttcgcg accgtcgaaa gagcataaga cacgggcgat gtatacaggt tcggggccgct 6720
 gagaagcgta ataccctact cctgtgtttt gggggatctg tgtatgaagg agctacaaag 6780
 tatgagccag cctctccctt gttctgggtt ccgaatctgg aaaagtccag tccagtcccc 6840
 ccctctaagt gggcaaggtc ctccttttat atcttaaggg gataccacat gcaccatctc 6900
 cctcctttct gtggagactt accctacctt ttcataaatg gacggagatt tgtatagtgtg 6960
 ccgtccgaat gaccttctga taggacggcc catacctacc tccacttccg ccgaaagcag 7020
 gtgcgacgtg ggattatggc tgtctgctga cgacatgacc agtgtcagac tggtcacaaa 7080
 ttgctcatte ctgtccacca cgcgtcagtt tagcaatcta catgttggcc cttcttcaca 7140
 caacatcttg cctgtaatgg ttaggatgaa gcctggcata tatctaacca ggactaacgt 7200
 gccatctcta ggaggttaaca cgctagctcc agctggggac gagcgcctag aagccctcgt 7260
 cctgacggga tggggcgagg cgtgcgtcag atcgcctgtc gccacctaac ctgcgatctg 7320
 accggtctgt gactggtcac agaccggata aacgagtga ctgcacttcg ttacatgcag 7380
 cgtgacacgc tcagccaaac cgcaataaat gtggttaggt gagccccgt gtgctcacct 7440
 aaccataca cgcggagcaa aaaccacga ggggtcgggg cgccctcgcc ctcggggccg 7500
 aggcgggtgc ggtccgaccc cctcgggggg actaagagga gggcgaacac atcacctcgt 7560
 ggcccgacgt ccccgagggt tgccaggcca cgtgggcgat tgtgtctgcc tcaaacctct 7620
 agtcatgata ctcctgatcc catgtcaccg acagtagccc ccggcggttat gccagggcga 7680
 tcgccctctt taagggaagc ggtcgggcgt gacgccactc ctaaggcctg gtgacaggtg 7740
 ggaccggtct ccacaattgg gcagaaaccc aacggtcaca aatcacgcac atcggcaatg 7800
 gtaactctac tatcaataat gagcgggtctc ttcaagactg ccacattact cgagtagcac 7860
 acgaatctgg acatggcgat tcgtttcgtc tggagatatg gtaacgtcgc tttggtcggc 7920
 gagcgtaatt aacgcgcgca cgatatgac tatctcgact gccacaaccg catatccacc 7980
 tcatgcgccg caagcgggcg aatgggatta gtggaagcgt gggcgcgaga aacgaggggg 8040
 cgaaatagtg ggcgcgagaa gcgaggagcc gggcacagcg ttggcaagag tataaaggca 8100
 ctgaggaaag gatctgtttc cttcctttcg ccatcatttc ccttgtcttc gccgcttgcg 8160
 ccctaactcc ttctttctctg tgctctactt tcgccacacg cgctcgctct caatcttctc 8220
 ttctccggc gccatggcac ggggctccgc tctgctcgat ggtagcgtgc tgccgccttc 8280

ccgcatcgtg agcgagaggc aggctgggct gccgcgccgc ttcatgccgg aatctgccac 8340
 cggccgggag atagtcacgc tgggcgaggg acgcccggcg ccagactacc cggggcggtc 8400
 cgtcttcttt ctcccccttg caatggcagg gctggttccg ccattttctt ctttcttcat 8460
 ggatgttctg aagttctacg atctccagat ggcgcacctc accccaacg cggatgatgac 8520
 attggccatc ttcgcgcacg tgtgcgagat gttcattggg gtgcgcccac ctcttcggct 8580
 gttccgggtg ttcttcaccg tgcagtcggt gtcgccgcca tcggtagtgt gtggctgcta 8640
 ctccagcca cggggggccg tgctgaatcg ctacatcccc tgcgccctcc gcaagaagtg 8700
 ggacgactgg aagagcgact ggttctacac cccctcgcg gacgaagcgc gcctccgact 8760
 tccgagccag cccccggcgc aggcctccag ctggcggggcg ccggtagatc tgggggatgg 8820
 ctatgacgcc gtcctcgacc gccctggcggg cctacgatcc caggggctca cagggaccat 8880
 ggtgtacggc gactacctc gtcgtcggat tgcgccgctc cagcggcgcg ctccggggcg 8940
 ctgggagtac accgggtccg aagactacat gaggaccac cagggagtca gatgggactg 9000
 ggctcctgag gatttcaaga tagtgggtcca acgggtgctg aatctcaact ccatggaggc 9060
 gtccctcatt cccaaggaa tcttccctct ctgcagcgat ccagaccgcg cctccatcct 9120
 gaccattatg acggcggtcg gggcctcaga ggagttagct ccaaagggcc acgacggcgc 9180
 aggcgggagc cgtagggggg atcaatctac ccggggaggg ggtcgtgctt ctgggtctcg 9240
 cgacggaggc ccgaggagca gccgccctgc cgacgcccg gggaagagga agcagggagg 9300
 aacacctccc ccatctctc cccgaggggg cggggcggtg cgtgccagca gcaggcgc 9360
 ggagggggcc gcgccgacat cgcagcccga gggggagcgc aagaagaagc ggctccgcaa 9420
 gatgggggag acagaacat ctccaggaaa ccttatttcc cctctaaagt ggtcgtttaa 9480
 ccgacccct cgcaggttcg tctctaccc atcgtggctg tattcattct ctcaacgcga 9540
 gttttcactc acccatcttg ttctcttctt ggtcttttct tctgtttcag cgagatccc 9600
 tcgctccct cccgccattc caagtccggc cagtctgagg ccgaggatcc ggccggccgca 9660
 gaggcccgga ggccgggaatc tgaccggcga gaggccgcgg atcgcttacg ggaagccgag 9720
 gaggccgccc aggaggccgc ccgggctcgc caggctcagg aaaccgctcg ggaggaggcc 9780
 gcccgggccc gccaggccga ggaagccgt cgggaggagg ccgcccgagc ccaccaggcc 9840
 gaggaagccg ctccgggagaa agccggattt cgccaggacg aggcaatggc gacttccgag 9900
 gcagctcgc atgaggctcg gggcgctcg cttgagccca cttctcggg cgacgctcag 9960
 gcgacaactt ccggggcagc tggcgacgag gctgcgggcg cgtcgttgg gccactccc 10020

tcaggcgacg cccaggacca accaggtccg agggacatcc ctgagtcgga cacttccatc 10080
 ggCggcccga gccgcgtggc atcctctcca aggcggctct tccccacgcc ttctatcgcc 10140
 ccactgagcg cagagccccct tctgcaggcc ttggccgccc caaacaccgc ggtgttggac 10200
 gggttagtg cccaggtgga ggccctgcaa gcagagtggg cggagctcga cgccgcgtgg 10260
 gcgcatgtcg aggagggggc gcgctcagtg gaggccatgg tggaggtggg ccgcaaggca 10320
 caccgccggc atgtctcgga gcttgaagcc cgtaagaagg tgttggcgga aatcgccaag 10380
 gaagtggagg aggagcgggg ggctgccctc attgccacca gcgtgatgaa cgaggcgcag 10440
 gacaccctcc gccttcaata cgggagctgg gaggcggagc tagggaaaaa gctcgacacc 10500
 gccagggggg tgcttgacgc tgccgtgcc cgagaacagc gggcggggga gaccgaagcg 10560
 gcgtcccga cggcggaaga gacccttgag gcgcgcgcca tggcgctgga agagcgcgcc 10620
 tgcgtcgtgg agagggatct ggcggaaccg gaggccgccc tcaactatcc ggaggcaaca 10680
 ctggcggcgc acgagtcgcg ctgtgccgaa gaggagtccg cactccgcct ccacgaggac 10740
 gcgctcaccg agcgggagcg agctctcgag gaggccgagg ccgcggcgca acggctggcg 10800
 gacagcctgt ccttcgcga ggcagcgcag gaggagcagg cgccgcgcac tctggaatgt 10860
 gtccgcgccc agaggaccgc actgaaccag caggccgctg acctcgaggc gcgggagaag 10920
 gagctggacg cgagggcgcg cagcgacggg gcggctgcgg gcgaaaacga cttagccgcc 10980
 cgcctcgtg ctgccgaaca taccatcgcc gatctgcagg gcgcgctaaa ctcgtccgcc 11040
 ggggaggtcg aggcctccg cttggcaggc gaggtagggc ccggcatgct ttgggacgcc 11100
 gtctcccgcc tagatcgcg cggtcggcag gtgggcctct ggagagggcg gaccgtaaag 11160
 tacgccgcca accatggagg cctcgcccag cgcctctcga agatggccag ggctctccaa 11220
 cggctccccg aggagctcga gaagacaatt aagtcacct cgagggacct cgccaagga 11280
 gcggtggagc tcgtactggc gagttaccag gccagggacc ccaatttctc tccatggatg 11340
 gcgctggatg agttccctcc tgggaccgag gacagcgcgc gcgcaggtcc gggatgccgc 11400
 cgaccatatc gtccacagct tcgagggtc agccccctcg ctcgcgttcg cccccaactc 11460
 cgacgaggag gacaatgccg gtggtgcaga cgacagtgc gatgaggccg gcgacccggg 11520
 cgtatcgat tgatccccca agccccgcc attctttagt tttttctct tttcttctt 11580
 ctaaggcctt cgggcctctt tttgtatag atcaacttaa tctgtaatca aaaatgaaga 11640
 aatttttgtg tcaatttcat cttgctgtgt gtatgagatg aggatgatct gtgacgtggg 11700
 ccttttgcgt cttagcttga ttaagggtc gtgcccaggt ccagtcctc aaaaggcgtg 11760

ggtcggggct agtcctggg gagatccaca tgtcgagact ggccaggccg ggaacgtggt 11820
gaccgagggt tatgggtgac ccgattgtgg gtttttgccg attccccccc ggagttcacc 11880
acgccccggg gcacggctcg gttctgggccc ccgtttggcg attttagccg acccgagccc 11940
ccgagggcag gattgagcac gagtgccta tttcaagtca agattcttca aaaggaaaaa 12000
aaaacacaga tacagccttt aggaaattga aactgctttt attgaaatac tgaaataaga 12060
gaaataagaa tgtgcatgtg tggcagcccc cggccaacgc tgcacgcccg agggggtgcg 12120
gggttggccc gagccgaaa cctgacaccc gacccccccc tcaggggtag aagcgacgaa 12180
ggtgttcgat gttccacggg ttaggcagct caatgccgtc gcccgtaggc agccgtatgg 12240
agcccgccg ggggacccg accactcgat acggaccctc ccacattggt gagagcttgc 12300
tcaatccagc acgcgtttgg acgcggcgta ggacgaggtc gtcgacgcag agtgatcggg 12360
cccggacgtg acgctgatgg tagcgccgca ggctctgctg gtagcgcgcg gctctgaggg 12420
ccgcgcgccg ccttcgctct tccaagtagt cgaggctatc tctgcgaagt tgatcttgat 12480
cagcctcgca gtacatggtg gcccgaggag acctcagggt gagctcggat gggagaaccg 12540
cttcgcgcc gtagacgagg aagaaaggcg tttccccgtt tgctcggtt ggtgtagttc 12600
ggtttgccc gagcaccgt agcaactcct cgatccatga atcgctgtgc ttcttgagta 12660
tgttgaagggt cttggtttta aggcccttga ggatttctga attggcgcg tccacttggc 12720
cattgcttct ggggtgggca ggtgaggcga agcagagctt gatgccatg tcttcgcagt 12780
agtcgccgaa gagttcacta gtgaattggg tgccattatc cgtaataata cggtaggca 12840
ctccaaaccg ggccgtgatg cccttaatga atttaagtgc ggagtgccta tcgatcttga 12900
cgaccggata agcctcgggc cacttagtga acttgctgat cgcgacatac agataactcaa 12960
acccgcccgg ggccgccta aacggtccca ggatatcgag cccttagaca gcaaatggcc 13020
acgaaagtgg tatggtctgc agggcctggg ccggctgatg gatttgcttg gcgtggaatt 13080
gacacgctct acatgccgg accaggctga ccgcatcatt gagagctgtc ggccaataga 13140
aaccttggcg aaaagcttta ccaaccaagg tgcgcgaggc ggagtgggct ccgcattcgc 13200
cttcattgat atcggaaga agcacaacgc cttgttccc aggaatgcac ttcaggagga 13260
ttccattagc cgcgcgccga tagagggtcc cttctaccag cacgtagcgt ttggagatgc 13320
gatggacgcg ttcactccct tcgcggctct cgggtaaagt cttatctgtg aggtatgctt 13380
ggatctcggc aatccaagca atcaatctaa gggagctggg agcgctcccc tcgggtccc 13440
aggcctggac ttcgacgggc ctggggggcc ggtcaggcgc gtccgtctcc cctaaggggt 13500

cgggtcgcgc cgacggctgg gcaagccttt cttcaaaggc gcccggtggg gtctgggctc 13560
 gcgtggacgc gagccgtgag agttcgtcgg caatcatgtt atcccgtctg ggcacatgcc 13620
 gaagctcaat cccgtcaaaa tggcgctcca tacgccgtac ttggcgcacg taggcgtcca 13680
 tctgcgggtc agagcaccgg tactccttac agacttggtt aacgaccagc tgggagtcgc 13740
 ctaacaccag gaggcggcgg atccccagtc cagctgccac tctgagtccg gcaaggagtc 13800
 cctcgtactc tgccatattg ttagtcgctc gaaagtcgag gcggaccaag tatctgagga 13860
 cgtctccgct cggagaggtc aacgtgaccc ccgcaccggc gccctgaaga gacagggagc 13920
 cgtcgaactg cattaccagc tgggcgggtgt gaggcagctg cgaggggtcc gtgctggcct 13980
 cggggattga gacgggctcg ggagccgggg tccactctgc cacaaaatcg gcgagagcct 14040
 ggctcttgat agcgtgacgt ggttcaaagt gcaaatcgaa ctcagaaagt tcgattgccc 14100
 atttcaccac ccgtcctgta ccctctcgat tatgcaagat ttgaccgagg gggtaagacg 14160
 taaccacagt gacccgatgc gcctggaaat aatggcgagc tttcctcgag gccatcagaa 14220
 tagcgtaaag catcttctgg gcctgagggt atcgggtttt ggcgctcccg agggcctcac 14280
 taacaaagta gacgggccgc tgcaccttcc ggtggggccg atcctcttcg ctaggggccg 14340
 catccctggg gcactcttcg tccaagcagc ctcgcggggc gcacttgtct tctgtgtga 14400
 tgacctcggg gtcggaggat aacaggggcg gccttcccac agtggtttg gggccgtcct 14460
 gggggtcagg ggctcctggc gtcgtcggac aagcgggcaa agggccaact ccggtcgtca 14520
 ggggccttag gcctccgttc ggctcggggg cctcttctcc ctgctcttcc ccgggtcgag 14580
 tcagcacagg gttagcctcg ggggtcaaagg gcgatagggt cggccttccc acagtggcct 14640
 cagggccttc ctgggggtcg ggggctccta gcaccgtctg acaagcgggc agagggccaa 14700
 ctccggtcgt cgggggcctc aggccaccgt tcggctcggg ggcctctcct ccctgctctc 14760
 tcccgggcca agtcggcaca ggggtggggaa gcgcgaaatg agaattatcc tcatcgcgct 14820
 ccacaaccaa tgccgcacta actacttgcg gggtcggcgc taagtagagt agcaagggt 14880
 cgtctggctc cggggcgacc ataactgggg gagagcttag atacgccttc aactgggtga 14940
 gggcatcttc agcttcttcc gtccaggtaa acggtccgga gcgtttgaga agcttaaata 15000
 agggtaacgc cttctctccc agcctcgata tgaaccgact tagggcggcc atgcaaccgg 15060
 tgacgtattg cacatcccta agtttgctgg ggggcgcac cgtctatag cccgtatctt 15120
 ctcgggggtg gcctcaatgc cccgggcaga gaccaagaac ccgagaagct tgcccgcagg 15180
 tacaccgaac acacacttat cgggggttaa ttttatgcgg gcggagcgga gactctcaaa 15240

agtttccgct agatctatga gtaacgtttc ctggttgccg gtctttacaa ccaagtcac 15300
 gacataagcc tcaatattac gtcctaattg gctaccgaaa gaaattcgag tagtacgttg 15360
 aaaagtagga cctgcattct ttaacccgaa gggcattgtc gtataacaat aggttcctat 15420
 gggggtaatg aacgcagttt tttcctcatc ctccctagcc atgcgaatct gatggtaacc 15480
 agagtatgca tctagaaaac acaaaaggtc gcaccccgca gtggagtcga caatctgac 15540
 tatgcgaggc agggggtaag gatccttagg acatgccttg ttaaggtcgg tgtagtcgat 15600
 gcacatccga agcttgccgt tcgccttggg aacgaccacc gggttcgcca gccactcggc 15660
 ggggttgacg ctgccatcat atttttcggc gatggtgggc cggaaccttg ggggccaacg 15720
 gacattccga agactcgcca caaaggctct acagccgaca ccaccaaccg ggggcacgga 15780
 gggctgattc ccgcgtccgt gttgaggtga cactctggac gaggaagcgc cctccgttgc 15840
 gtgggcagca cttcggtcac tacgccggcg ctcgatgctg gtgcgggcgt ccggcccccc 15900
 acgcagatct ttctgggtcg aaggagtcga cgaaggagtg gcggccgaat ggccaacagc 15960
 ggctgccgct cgtcgtgccc tccgtcttga cgacgcggag ccggtggtag cagcaccaga 16020
 ggccttggtg gcggaggacc gcccaccagc atctaggcgc tgccgtgccg tcatgactaa 16080
 tttggccacg tcgtccagcc atcgttgggc tggagactcc gggtcaggga cgacaggcgg 16140
 gtgacgtaag agcgcgcccc cagcttgag cgcgccctgg ggcgtgctgc cgtcgccgta 16200
 gacgaggagg cgacgtccc catctcgcc ttcttctcca tcgcccga tcggtgaagt 16260
 cgcggtatct tcgacctct cgagcgctc cccccgtta ggactttggc atggaggag 16320
 cgggtggagta cgagctcgac ggcgtgggtt cggctccccg tcgtcgccac tcacactcgg 16380
 agagaggctc tgcgcttttg cttgctcggc catcaggctg aacaggaaaa gcttggcgca 16440
 cacggaagag tacgagagct cagaaaaaca cacttgagt ccctacctg gcgcgccaga 16500
 tgacggagcg tggggctcct caccgggaga ccgcgcaggc cccctttgc cggttcggcc 16560
 ggggactcaa ggtgaaattc taagctctct gtatgtggaa ggtttgcgac cgtcgaaaga 16620
 gcataagaca cgggcgatgt atacaggttc gggccgctga gaagcgtaat accctactcc 16680
 tgtgttttgg gggatctgt tatgaaggag ctacaaagta tgagccagcc tctcccttgt 16740
 tctgggttcc gaatctggaa aagtcagtc cagtcagtc ccccccteta agtgggcaag 16800
 gtctctcttt tatatcttaa ggggatacca catgcacat ctccctcctt tctgtggaga 16860
 cttaccctat cttttcataa atggacggag atttgtatag ttgccgtccg aatgaccttc 16920
 tgataggacg gcccatacct acctccactt ccgccgaaag cagggtgcgac gtgggattat 16980

ggctgtctgc tgacgacatg accagtgtca gactggtcac aaattgctca ttcctgtcca 17040
 ccacgcgtca gtttagcaat ctacatgttg gcccttcttc acacaacatc ttgcctgtaa 17100
 tggttaggat gaagcctggc atatatctaa ccaggactaa cgtgccatct ctaggaggta 17160
 acacgctagc tccagctggg gacgagcgcc tagaaacct cgtcctgacg ggatggggcg 17220
 aggcgtgcgt cagatgcct gtcgccacct aaccgcgat ctgaccggtc tgtgactggt 17280
 cacagaccgg ataaacgagt gcactgcact tcgttacatg cggcgtgaca cgctcagcca 17340
 aaccacaata aatgtggta ggtgagcccc gctgtgctca cctaaccat acacgcggag 17400
 caaaaacca cgaggggtcg gggcgccctcg gccctcgggg ccgaggcggg tgcggtccga 17460
 cccctcggg gggactaaga ggaggcgaa cacatcaccc tcgggcccga cgtccccga 17520
 ggggtgccagg ccacgtgggc gatttgtct gcctcaaacc tctagtcatg atactcctga 17580
 tcccatgtca ccgacaaggc catccgaatg tattaaggag taaaagtac aagaaaaaac 17640
 accataatgc accaatgtgc atgaccacac accatacact accccaagc acaaaccact 17700
 gagggatgaag cctagcacca aacgaccgcc actaagtgtg accaaacgcc gctaggccta 17760
 cggcagcaac acatagatga gacttcgaaa acgatgccac caaggtggtc acgacatcta 17820
 ggatgctgcc atcgtccatc taaaaagatg tggttttcac ccagagaaac tcatcaagaa 17880
 ggggagaggg taacccttga cagcgcccca aggaggttac gacgcccga ggcgtagccg 17940
 ctgccggtcc ggtgaaccac cggactaggc ttccgcctag gaccctatag ccttgatcgc 18000
 agatcacgt ccaccactca gaaccaccac acagacaaaa ggtagcacgt agcttccacc 18060
 acaccgcacc gacgcccctt cgtcggccga ctccatcgaa ccaccatccc tgagagctgg 18120
 cccaggaccc ctccgttcca ccaccgcgc gccgccttgc cagttttggc caaaggagaa 18180
 cccgggactg ggtgacattg cttcggcagc ctgagcttcc cccgctggcg agctgctgtc 18240
 tcaatccaac ctagaaactc cccgcaaaag aaggggatga gctctaggaa gggcgagggt 18300
 gccgaccggc aacgaggaag acaaccatc gactccagct ccctttgcac taccatctgg 18360
 ccctgcgcca atgccggata cgctgtcgt cggctccgg gccaccac ctgcaccccc 18420
 tttgcctggt ctccgcgcc ctctggctg cgtcgcgcc cccagctggc cgctaagggc 18480
 accgcgacgg ccgcccggct accgaggcct ggccgcgcca tgggacagct cgcgctggca 18540
 ccagcgagcc acggccgtcg cgctgttgcc ggccgcagcg agcacaaccg ccagctccaa 18600
 gggccgagca tgccactgag ccgccgccgc tgccgcccg gccggctgca cgtcacccgc 18660
 gcacacgacc gcacgccgcc acgtccgcc tccgcgccg aggcagcccc atgccattgc 18720

cgCgcacctc gcccgcccgc tgccgagccg ccaccgcgca ccttgctgag ccgccaccgc 18780
 cgtccctagc cgcctcgtgc cgccgccacg ccagatccag gcgcgggatg gccggatccg 18840
 gccttggggg cgccggatcc accgcctccc cacaccgcca cggcgtcacc acctccgacc 18900
 gcagtgaggg cttcgtcgtt tgccccatcc tcatcgcgtc gaggaggaag acgccaagaa 18960
 aaaagggcct cgccgctgcc ttccttgctc gctgccggct tcgccgccgg cgagctccgg 19020
 cggcggcgag gtgggggaga agaagtgggg agtgggcagc tagggttttt tcgccccca 19080
 agccgcccggt gcgagagcga cggtgggggg gggggggact ttccaacctc ttccagtgtt 19140
 ctagttctcc acgttatgta actcaatttg ttttaaccata gaaagtaaga aacctaccag 19200
 cgtgttaagc tctctttcat tccctttctt cttcctgggt ttgcttccat cacatgtcaa 19260
 gtgaagggtt cttactacc attactccta cacatctaata ttttttctca gatctttcgc 19320
 aggtatatat tgatgctaca ttttatgac ttaagataat ctccttcaca ttaccctctg 19380
 ctgaaacttt agcttgaacc gtcatttca ccacaatttg agcccaattt gcacagagca 19440
 caacgagcaa tagcttgccc ttacgttcat tathtagcat gaactactac taactaccca 19500
 agaatcaata caccggttta ataacgcat tttatcacgt taatatatgt ttcatccaac 19560
 acaccggttt tggcacagt gcaaacttgc aataaattct ttctacttc tccatcccat 19620
 aatataacaa attggtatgt ctgctctggt actaagttac tatattatga gatggaggga 19680
 gcacttcttt tcttccaaaa tataagaata tagtattgga ttagatatta tctagattca 19740
 cgaattcgat taggttgtct agatttatag ttgtatgtaa tgtataattc ggtaataggt 19800
 tattacctct caggatggag ggagtagttt tgactttttt tttcttataa atcgctttga 19860
 tttttatatt agtcaaattt tatcgagttt aactaagttt atagaaaaaa attagcaaca 19920
 ttttaagcacc aactagttt cattaaattt agcatggaat atattttgat aatatatttg 19980
 ttctgtgtta aaaatgctgc tatatttttc tataaacgta gtcaaattta aataagttag 20040
 actaaaaaaa atcaaaacga cttataatat gaaatggagg aagtagtaga ctataacaaa 20100
 tttaaaccgt gctttgattt tagagcatca ctaatatgtt agcaataatc tatccctaaa 20160
 atttattttt tttcctaaac tgaaaatagg aagtggaaat actcctccat ctaagagaga 20220
 gcctaaattc aataaaaaaac taaaaaacta aaggtggatc cctctattaa actaccgcaa 20280
 aaaatttatg ttttttttct cttccacgcg gcgagaacag atatctcgat caagtttagca 20340
 tgtaaaattt ttaagagat acctatacg actccttccg tatttccaaa agcaaacgga 20400
 tttaaaatct gactcaaata aagatctata tatccaattt acatgacaca tgtttcgccg 20460

aatttttata ttaataataa ttaatatattt taaaattaaa ttattagcaa tttgttttga 20520
ggatttatca aaacaggatg gacgttgttt ataacagcgt ctagacctag acgcgcttgc 20580
aaactgcggc caccctttta tcacacaaat ttttgacaat ttgacacitt ccaaaaatta 20640
attttataaa ttaaccgtga ccaaaactta tttaaaaatg atctttttgt tgagcgcaaa 20700
atcgtatact tcagegccaa atagcacggc gccgacctcc cccttcccct cccctctatc 20760
ctccactgct gccgcccacc tctccgtatc agctgcgtcg cgttggtttc cgccggcgct 20820
gctgctgctg caccagtccg ctagggcggg cgggcatggc gcgccgcgcc gcttcccgcg 20880
tccgcgccgg cgctgttggc gcccttcgct cggagggctc gaccaaggg cgagggggcc 20940
gcacgggggg cagtggcgcc gaggacgcac gccacgtgtt cgacgaattg ctccggcgtg 21000
gcagggggcg ctcgatctac ggcttgaact gcgccctcgc cgacgtcgcg cgtcacagcc 21060
ccgcggccgc cgtgtcccgc tacaaccgca tggcccgagc cggcgccgac gaggttaactc 21120
ccaacttgtg cacctacggc attctcatcg gttcctgctg ctgcgcgggc cgcttggacc 21180
tcggtttcgc ggcccttggc aatgtcatta agaagggtatt tagagtggat gccatcgcct 21240
tcactcctct gctcaagggc ctctgtgctg acaagaggac gagcgacgca atggacatag 21300
tgctccgcag aatgaccag cttggctgca taccaaatgt cttctcctac aatattcttc 21360
tcaaggggct gtgtgatgag aacagaagcc aagaagctct cgagctgctc caaatgatgc 21420
ctgatgatgg aggtgactgc ccacctgatg tgggtgcgta taccactgtc atcaatggct 21480
tcttcaagga gggggatctg gacaaagctt acggtacata ccatgaaatg ctggaccggg 21540
ggattttacc aaatgttgtt acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag 21600
ctatggacaa agccatggag gtacttacca gcatggttaa gaatggtgtc atgcctaatt 21660
gcaggacgta taatagtatc gtgcatgggt attgctcttc agggcagccg aaagaggcta 21720
ttggatttct caaaaagatg cacagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt acttataact 21780
cgctcatgga ttatctttgc aagaacggaa gatgcacgga agctagaaag atgttcgatt 21840
ctatgaccaa gaggggccta aagcctgaaa ttactaccta tggtagcctg cttcaggggt 21900
atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc atggtctctt ggatttgatg gtacgaaacg 21960
gtatccacc taatcattat gttttcagca ttctaataatg tgcatacgt aaacaaggga 22020
aagtagatca ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccggata 22080
cagtgcacta tggaacagtt ataggcatac tttgcaagtc aggcagagta gaagatgcta 22140
tgcgttatatt tgagcagatg atcgatgaaa gactaagccc tggcaacatt gtttataact 22200

ccctaattca tagtctctgt atctttgaca aatgggacaa ggctaaagag ttaattcttg 22260
 aatgttgga tcgaggcatc tgtctggaca ctattttctt taattcaata attgacagtc 22320
 attgcaaaga agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgacctgatg gtacgtattg 22380
 gtgtgaagcc caatatcatt acgtacagta ctctcatcga tggatattgc ttggcaggta 22440
 agatggatga agcaacgaag ttacttgcca gcatgggtctc agttggaatg aaacctgatt 22500
 gtgttacata taatactttg attaatggct actgtaaaat tagcaggatg gaagatgcgt 22560
 tagttctttt tagggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataata 22620
 taattctgca aggtttatctt caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaagaa ctctatgtcg 22680
 ggattaccga aagtggaacg cagcttgaac ttagcacata caacataatc cttcatgggc 22740
 tttgcaaaaa caatctcact gacgaggcac ttcgaatggt tcagaacctg tgtttgacgg 22800
 atttacagct ggagactagg acttttaaca ttatgattgg tgcatgtctt aaagttggca 22860
 gaaatgatga agccaaggat ttgtttgcag ctctctcggc taacggttta gtgccagatg 22920
 ttaggacctg cagtttaatg gcagaaaatc ttatagagca ggggttgcta gaagaattgg 22980
 atgatctatt tctttcaatg gaggagaatg gctgtactgc caactcccgc atgctaaatt 23040
 ccattgtag gaaactgta cagaggggtg atataaccag ggctggcact tacctgttca 23100
 tgattgatga gaagcacttc tccctcgaag catccactgc ttccttggtt ttagatcttt 23160
 tgtctggggg aaaatatcaa gaatatcata ggtttctccc tgaaaaatat aagtccttta 23220
 tagaatcttt gagctgctga agccttttgc agctttgaaa ttctgtgttg gagttctttt 23280
 ctctacagt cgtattagag gagggatctt ctctttatgt gttaaatacg aggtatgtat 23340
 gtcacctctc cgaattatct ttactctggt tcctagacgg taaacaagca attatgttct 23400
 gccittgatg ccagaaaaaa cacaaaagtt tgtcgttata tctactaacg gatcataaag 23460
 gaatttgtaa ctggagtttc aaacttaatt tgtctaggca gtagttttgg cattagatcc 23520
 aacatttgtt aggtattcatt tgtgtgtatc aatctatagg gtttcattaa atttcgttta 23580
 tgtgtactgt ttaggtgttg aatagtttga cttgtttttt aactgaacaa aagatactga 23640
 aatcgttcca ttcaacaaac acatgttccg ttaatgaaat tattgtacgt taccttttgt 23700
 tttcttactc acaagtgtcc tcttttctta tctctatag attggtacaa caaattattg 23760
 attcaatttt ggttttgaac attgatgac ctccctgcac tattggtgca gctgctcttc 23820
 tattcatctt gtgaagtgat gtgagtacct ctcaatccca tccttatgct tctgtgcagt 23880
 cttcattcca attttttacg catatcgatt gttttctttt atataacagt ccataaagat 23940

aatcacatca tgacaaagtt atttatttct acagtatagt tatataagta ttcaccagtt 24000
ttccatgaat attttggcat gtgattacaa agaagattat ttgagaaaat ccatgctttt 24060
atttcatcat tttgtttgaa gttgaacttt aatttatggt gtaaatttca gttattattg 24120
ctagcagctc gtactcttta atgggtataac ttcacttggt cttattctcc aatatctccc 24180
ttcttgttgt tcaggttcaa gaaaatcatt tgttggattc agaatctggt gtccattttc 24240
ttcttaaatt attaaatcct ccagtgaatc ttgttgattc caaagcacca tcgatagggt 24300
ccaaacttct tggaatcagt aaagttcaaa tgcttaatgg atcaaataag gattctgact 24360
gcatttcaga ggaaatcctt tcaaaagttg aagagattct cttagctgt caagtgatca 24420
agtcgctcga caaagatgac aagaaaacaa caaggccaga actgtgtcca aagtggcttg 24480
ctttgttgac aatggaaaat gcattgctgt ctgctgtttc agtagagggt aagttttaat 24540
caaatttctt ggtcatgatt tccctttatg accattatat ttatttatat gagccaaata 24600
agcagttgtc aacttgtcat aagttacata gcacctatit gcaatattca tgggtggttt 24660
gcttagccct tttcttcacc tgcttttgat tgatgacttc catctgtgtt gcagaattga 24720
attggagtag tggactgcac tagaagcacc tatggccatt gtcatactag gaaggttttc 24780
ccttatcaaa tatttgattg ttacagagac ttctgacaca gtgtccagag ttggaggaaa 24840
ttttaagag acattaaggg agatgggagg tcttgatagt atttttgacg ttatgggtgga 24900
ttttcattca acattggaga tgagatctcg ctaacatcgc atattttaca tttcctttgt 24960
tcaactctaa tagattgtgc aggcttggtc cttttcgcca ttttagcttt aatgcgcttg 25020
aagccacatg aaagtaatgc ttgtccagat acatagccaa aggttggtat attttggggc 25080
atggaaaatg cttgaggtag taactatit catcaggaca tggaaaattg gctgcaacac 25140
aaattatgtt gttttatgtt gcaaaaatag ttttttaata cttttttatt ctgcatgtgg 25200
tgtagtatac ttacagttcc tctgatgatt atatcccca cgataataac acttgaaacg 25260
ataataacac ttgacataac tacaccaagt gaacattatt catttgatg ttacttttcc 25320
agctatactt gctgttcttg catgtgtaag caagtttgga gtaaattgcg cattaattta 25380
aatgcttggt gttcctatct gtgtactttt tattcccca ctaataatgc aatcatatta 25440
cgctgataaa ctgaataaat aaattaacaa tatacttctg gtggcaaacc ttgtgtatca 25500
gaatctcata aaggatacat ccacttcagc tttggaccga aatgaaggaa catctttgca 25560
aagtgtgct ctcctcttga aatgtttgaa aatattggaa aatgcatat ttctaagcga 25620
tgataacaag gtaatgctcc ttatatgtt tgtttcagtt tagtacctat ttccttcttc 25680

tgtactatct tctctcctga ttgtttctgt gcaaaatgtg caaacagtg gactttgtat 25740
 gtctgcttaa caattttctt ttcttccctga aaaagcaata tgaactctta cattcatttt 25800
 gcttcttgca gaccatttg cttaatatga gtagaaaatt gaacccgaaa cgctccttg 25860
 ttctttttgt tgggtgcatt atcaatacta ttgagttatt atcaggtatt ttctttaata 25920
 atacaatgtg ttcgctaaca caataaaatg ttttaaacat ccagtatgtt aaagttgcag 25980
 tctgacgcct attttgtttt gctgcagctc tttcaatact tcagaattct tctgttgttt 26040
 ccagctctac atatccgaaa tcgtctaaag tctctcaaca gagttactct ggtaataaca 26100
 aacaccaatt ttgtttgatc agttgatctc gttggctttt ctatgcactg tctcaatata 26160
 gtttggtcgc cattcaagtc tctactacaga tgttgaactt ggcttgacac caaatattta 26220
 taaaatgcta cctgatattt ttaatatctc atgtttcctg acccagatta tcttgttggt 26280
 tcctcgata agtttaatta gtgacattct tgaagctttg ttatgcagca gatgtcatgg 26340
 ggggaacttc atttaatgat ggaaagagca agaactcgaa aaaaaaaaaac tttgtcgaa 26400
 ccagacacgt cattgttgct tatcttcaaa atcagaagtt tctcatatta ctatatcttc 26460
 tggtagtgat gctggtctgt cacagaaggc attcaattgt tctccattta tatcaagcaa 26520
 tggggcatca agtggttcat taggcgagag gcacagcaat ggtagtggtt tgaagttgaa 26580
 tataaaaaag gatcgtggca atgcaaatcc aattagaggc tcaactggat ggatttcaat 26640
 aagagcgcac agttctgatg ggaactccag agaaatggca aaaagactcc gtctatctta 26700
 aaatgtaatc accgacagtg gtgggtggtga tgaccctttt gcatttgacc gccgcgtcgg 26760
 cgtcgccacc acgtaatcgc ccacgtcgtc gccccgctg ccacgtcgtc gaccgcgcac 26820
 ggtaatcaca cgcattctga ggccgccgtc agctgatata ttctcatccg gttgatttgt 26880
 gattttggcg tttttgcagt ggtgatggcg gggggcgacc gtggccgagg cgtggagtgc 26940
 catccgcac aggggtgtatc ggccgcgtc ctccgccctg gtccgcaggc tttggcggcg 27000
 agctggcggc ggaggagagac tgtggtgaga tcggatttcg ccgctggtgg tgcgctacc 27060
 atgggggatt cgcgcaggc gctctcaggt ttgcagcctc ctccactctc ttcccttttt 27120
 tatttttttt tctcgcaaaa tgtgttgta tgttcgtctc gctgggctgg cctcatagcc 27180
 attaatgtag tttgctggaa catttacatt tggaacgttg ttggcaattg ctttacaaaa 27240
 tgtggaattg tggaggggag aaaaatcatt tgaacctgca gtgacaaaat tgccatctct 27300
 aattttaaaa ctgaagggtg ggaaatcaaa cataatcatt gccagcgcac cattcttgtt 27360
 aaccaccatg atatattgtt ggttataaca gttagctcca caccaacctt gaaggtgtca 27420

atagaatgtt tagtataaat tgaggagaac aggcagttgt taagactttc taaagaactt 27480
gtagcagcta atactagcta ttgtgcattt gtgtttcatg gaatttgagc agcaatggat 27540
atttcttact aagatgtatg atgcaaaaca aaaaactatg tctatacagt ttacatgtaa 27600
tgtgcggatg caaataaaat catgtacatg gacaaactca tgggattcat accgaattcc 27660
agaattgcat ttcttatgtg gttacttttg ttgttgattt ggttaccaga catcgatgtg 27720
atttcaaggg tcagaggggt ttgcttctac gcggtggctg cagttgcagc aatctttttg 27780
tttgtcgcca tggttgtggt tcatccactt gtgctcctat ttgaccgata ccggaggaga 27840
gttcaggaaa aaaatttgaa aatacccatt tttgaaaaa gatttacgtt tatatacact 27900
agtatgaaga atttgcgaaa atataactaa tccgcagatc ggttatgcgg gagcgcaaca 27960
aaagtatggc gtggcggcgc ggagtggacg gccgaggcgt tcgcgcggaa tggggctgcg 28020
ggaccgagcc agtctcgctt gccggtaacg cggaaccggt acgctcccgc agcgccagtg 28080
tgcggaaccg cggcgccaac atttttttac tgcattggcac tgtgtttaat actgtttgac 28140
actgtttctg gtactgtttt acacagttcc cgggtcagtt ccgcacaatg gaggcgcggc 28200
accgaccatg aacaatgtgt gaacagtgtc gcacagggtt aaaacagtgt ataaactgcg 28260
ctgcacagtg ctggagtcgc tggccactgc ggttccgcgt tttggaaccg cgggaccgtc 28320
gcgattccgc gttttggagc tgccggacca tgacggttcc gcgcaggatc gtcggtcccg 28380
tattttgaat ctgcggaacc gtcgctgtcc cgcgtttcca tttcgcggga tgcgtatatt 28440
tttataaaac ctctccatgc atgtatataa acataaatta ttgaaaaaat aagtatattt 28500
gcaaattttt ttcgagagct cagcactaca ttgcaagat ttgggcaact ctgacaattt 28560
ccatgttcta caagcttgac gtcgagggaa tggagaacct gccaccgaat agtagccctg 28620
ctatctatgt tgcgaaccat cagagttttt tggatatcta tacccttcta actctaggaa 28680
ggtgtttcaa gtttataagc aagacaagta tatttatgtt ccgaattatt tgatgggcaa 28740
tgtatctctt aggagtaatt cttttgcggc gtatggacag caggagccag ctggtatggc 28800
tgtagtctca tccctgcttt cttaagtaga catatatgca attacagaat ttggtaaaca 28860
aacaagattt tatgaatcat atatgatttt ggggaaaaca ccaaactctc tttggtggct 28920
gccttgaaca tagttctatt cacacagtta tagcaccttc tttaaaatga agaactttgt 28980
tgcatacaca tatggccaaa ccacataatg aattttgttt atttctatct ttgaatgtta 29040
gcaccttatt ttcatgcata tcatgcta atgtgtgccc acgttgagtg ggaatttttt 29100
tccatgtttt ataatttata tatgttctag acttctagtc cacaatttat ctacttcatg 29160

ttcttgagcc tctagtatgg ctggtagcag actaggtgct gaggctgtc catttttgca 29220
 gactgaagag aggagaaata caggactgtc cgttgtagt cagatttgta aaaatagact 29280
 ctgatgtagt ttatttttagc ccctatttta tatttaacaa taaaatata taacgtatcc 29340
 taagaactta tcgtaattta ggagaagttg ctggtttcat taaattaaac tgtgaagtaa 29400
 aaatgtgtgc tcgagtctgt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atggtgtagg 29460
 gcaggctagg atcgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcatttg tgcacttggt 29520
 gctgccacgc cgattaagca gtagaacaaa gtaattttgt cgtgcacaaa tgagttatat 29580
 ttcatgaaa atcgaagtga aaatgaacca aaagatagaa gaaaagggga aacttggtaa 29640
 ttatatactc cacaaattta ttggtaagat ttgatattag acgctcgatt acttggttta 29700
 agttaaggat atcaaatitg gggaagcacc aaaggaatta ttgtgaagga gttgtgggtg 29760
 cataacgtta tctactagtt caaatcctag tgactatgaa tattaatgag taaggttaagg 29820
 gattttattgt taatttttagt ttctttaaga ttgtgtccga gtacaccatt cggttaagtgt 29880
 aataatgttt tgtattggat tcacttgtgt tacgtgcatg tgcttttacc ttttcatttg 29940
 tttctgcgtt ctgggtatga atttgacgag attccatggt cagctcaaca tatcagttac 30000
 tgcgtgtcaa gcgatcttat atggtatgcg cacaagcgat tgtatacgga tatgacagta 30060
 taatgtgtga tattgatacg atgttccttt cttttataaa ggaacaaaga ctttttttaa 30120
 aaaaagaagg ggtattacta aaaacccaaa tgtcaaaaac aaaatatcag tgcacatggc 30180
 aagtgtgcac gagcaatagc ttgcccttac gttcattatt tagcatgtac tactactaac 30240
 tacgcaaaaa tcaattcacc gattattaaa ctgttaacat cattttagca cgttaacata 30300
 tgtttcattc aacacaccgg ttttggcaca ttacaaaact tgcaaagttg caatactccc 30360
 ttcgtttacat agcataagag attttaggtg aatgtgacac atctatccaa attcattata 30420
 ctagaatgta tcaccgcctc cacgccggga gggagagcgc cgccggtgga gaaaggggga 30480
 gggagtggtc gaggggaacc agtaggggtg cctccccgtc gccgcctccc cgtggccgcg 30540
 ccggcgagac aggaggaaga gggggagatg gagcggcgcc gccggtgagg gcgcgcgtgc 30600
 gcgggggggg ggggggggga gcggcgacgc cggtgaggaa gggaagggga gtggtggctt 30660
 tgagagagat aggggagagg gaaaatgatt ttagagttag gggttgggct gctgagtttt 30720
 tatatagatc gggatcaatc aggaccgtcc atcagatcgg acaactacgg tttctcccgc 30780
 gttgggcccgg gtgccactcc taggttgccc acactatttg gccacatgta cgctccgcgt 30840
 gaaataagtt cactttaggt cttttaagtt gcctctgaat tgttcccagg ccggccgcac 30900

tattgggccca ccccataggc catgtgtacg ctccgcacag aataatttcg ctttagctcc 30960
cttaatttgt cccctcaaac ttctaaaacc agtgcaaadc tttaattttt agttcaccca 31020
ttgcaactca cgggcatatt tgctagtac atataatatg aaacgaagga tgtagcagac 31080
tatagaattt aaactgtgct ttcatttttag agcatcacta actgttattt agatttttat 31140
ttaaataaat gcagaaatga tgtttttatt atgaaaatta gcaataaagc tcccaaaatt 31200
tcaaaaaaaaa attaaaagag atttattaat catgggttaat ttaattaaaa attaaatcta 31260
accatatcat attatttcac ggtccgtgat gaggaatgg cagctgctat cacttatggt 31320
gggagagaag gggcattgtt tatttttata actatctctt ataactcca tgaaactata 31380
aaataaatat aatcattatc ataacattag tttttttcca ttgcaacgca agggtaattt 31440
ttcagtacaa taaaaaaata aaagtgggcc attctgaacg gaaatttctg gttttttttc 31500
ccaagagcgc cgcacacaac tgcgcaagag atcgatcgcg atcacctgc tcgtcgccga 31560
tctcctacac catccctgcc atctccttcc cctccactgg ctgctgctgc acctgtcagc 31620
tagggcgggc atggcgcgcc gcgcccgttc ccgcgctgct ggccgcccttc gctcggaggg 31680
ctcgatccaa gggcgagggg gccgcgcggg gggcagtggc ggtggcgcgg aggacgcacg 31740
ccacgtgttc gacgaattgc tccgtcgtgg cataccagat gtcttctcct acaatattct 31800
tctcaacggg ctgtgtgatg agaacagaag ccaagaagct ctcgagctac tgcacataat 31860
ggctgatgat ggaggtgact gccacactga tgtggtgtcg tacagcaccg tcatcaatgg 31920
cttcttcaag gagggggatc tggacaaaac ttacagtaca tacaatgaaa tgcttgacca 31980
gaggatttcg ccaaattgtt tgacctaca ctctattatt gctgcgctat gcaaggctca 32040
aactgtggac aaggccatgg aggtacttac caccatggtt aagagtgggt tcatgcctga 32100
ttgcatgaca tataatagta ttgtgcatgg gttttgctct tcagggcagc cgaaagaggc 32160
tattgtattt ctcaaaaaga tgcgcagtga tgggtgtcgaa ccagatgttg ttacttataa 32220
ctcgctcatg gattatcttt gcaagaacgg aagatgcacg gaagcaagaa agatttttga 32280
ttctatgacc aagagggggc taaagccctga aattactacc tatggtaccc tgcttcaggg 32340
gtatgctacc aaaggagccc ttgttgagat gcatggtctc ttggatttga tggtagaaa 32400
cggtatccac cctaatacatt atgttttcag cattctagta tgtgcatacg ctaaacaaga 32460
gaaagtagaa gaggcaatgc ttgtgttcag caaaatgagg cagcaaggat tgaatccgaa 32520
tgcagtgcag tatggagcag ttataggcat actttgcaag tcaggcagag tagaagatgc 32580
tatgctttat tttagcaga tgatcgatga aggactaagc cctggcaaca ttgtttataa 32640

ctccctaatt catggtttgt gcacctgtaa caaatgggag agagctgaag agttaattct 32700
 tgaaatgttg gatcgaggca tctgtctgaa cactattttc ttttaattcaa taattgacag 32760
 tcattgcaaa gaagggaggg ttatagaatc tgaaaaactc tttgacctga tgggtacgtat 32820
 tgggtgtgaag cccgatatca ttacgtacag tactctcadc gatggatatt gcttggcagg 32880
 taagatggat gaagcaacga agttacttgc cagcatggtc tcagttggaa tgaaacctga 32940
 ttgtgttaca tatagtactt tgattaatgg ctactgtaaa attagcagga tgaaagatgc 33000
 gttagtctct tttagggaga tggagagcag tgggtgttagt cctgatatta ttacgtataa 33060
 tataattctg caaggtttat ttcaaaccag aagaactgct gctgcaaaag aactctatgt 33120
 cgggattacc aaaagtggaa ggcagcttga acttagcaca tacaacataa tccttcattg 33180
 actttgcaaa aacaaactca ctgatgatgc acttcggatg tttcagaacc tatgtttgat 33240
 ggatttgaag cttgaggcta ggactttcaa cattatgatt gatgcattgc ttaaagttgg 33300
 cagaaatgat gaagccaagg atttgtttgt tgctttctcg tctaacggtt tagtgccgaa 33360
 ttattggacg tacaggttga tggctgaaaa tattatagga caggggttgc tagaagaatt 33420
 ggatcaactc tttctttcaa tggaggacaa tggctgtact gttgactctg gcatgctaaa 33480
 tttcattgtt agggaaactgt tgcagagagg tgagataacc agggctggca cttacctttc 33540
 catgattgat gagaagcact tttccctcga agcatccact gcttccttgt ttatagatct 33600
 tttgtctggg ggaaaatata aagaatatca tagatttctc cctgaaaaat acaagtcctt 33660
 tatagaatct ttgagctgct gaagcatttt gcagctttga aattctgtgt tggaattctt 33720
 ttctcttaca gtccgattag aggagggatc ttctctgtat gtgtaaatag cgaggtatgt 33780
 atgtcacctc tccgaattat tttgactgtg gttcctggac tgtaaacaag ctattatctt 33840
 ctggtgttga tgccagaaaa aacacaaaag tttgtcgtta tctctactaa cggatcataa 33900
 aggggtttgt aactggagtt tcaaacttaa ggtatctagg cagtaggtat atattgatcc 33960
 tacatcttat gatcttaaga tgatatacct ctcattatcc tctgctgaaa ctttagcttg 34020
 aaccgtcadc tacaccacaa tttgagcccc ttagcacaga gcacaacgag caatagcttg 34080
 cccttacgtt cattatttag catgcactac tactaactac ccaataatca atacatcggt 34140
 tattaactg tttgtacagt ttaataatgt cattttatca cgttaacata tgtttcattc 34200
 aacaccacac cggttttggc acagttgcaa acttgcaata acatttttac tacttctccg 34260
 ccccataata taacaatctc gttccatact atattgctat attacaggat ggatgaagta 34320
 cttcttttct tccaaaatat aagaatctag tactagatta gatattattt ggattcacga 34380

atttgattag gctgtctaga tttgtagtcg tatgtaatgt ctaattcggg aataggttat 34440
tacctctttg gatggaggga gtagttttta tttcgtactc cctccgtttc atattataag 34500
ttgttttgac ttttttctta gtcaaatttt attgagtttg attaaattta tagaaaaaaa 34560
ttagcaacat ttaagcacca cattagtttc attaaatgta gcatggaata tatttttata 34620
atatgtttgt tttttattaa aatgctacta tatttttcta taaatgtagt caaatttaaa 34680
gaagtttgat tatgaaaaaa tcaaaatgac atataatatg aaactgagga ttagcagac 34740
tatagcaaat ttaactatg cttttatttt agagcatcac caaaagatta gcaataattt 34800
atccctaaaa ttcaagtttt gggtttctta aactgaaaat aggaagtga aaatcttttc 34860
cgtccaagag atagcctaaa tcttatctta actaattaaa atattcataa ttttcctttc 34920
gtcacattaa attttcgtcc gtaaactctga ttgaaatcca attggacaat ccaaaaaata 34980
gagaaaaaga acagaaaaaa taataaaaag cacacaaatc ttatctcaat cccgcgggaa 35040
gctgccgacg ccgccgaatc cgctcgagcg ccgccgccgc cgctcacggg gaacgatgtc 35100
gctgctgtcg cacgcggtat gggagggcgc cgctgccact gcttgggaga taggatattg 35160
agagagaagg aaatgtgagg gttagggtta ggtttttccc cgtccgtatc ttcagcgaca 35220
cggaggcgat ccaagctgtc catcagatcg gacggctcag aatgcctcca tcgtcgggcc 35280
gcgcatgctt gatgggccga gggaaggccg gagggctcga caaacgcaat caaaggagga 35340
gttgaggag gtaaattaga atttatttgc gggctgagat agtaaattga ctgaaaatgg 35400
cccatagaga aattgggaat tttattttaa taaatgttga aaaggtgttt atattatcaa 35460
aattaaaaat taagctccga aaattctaaa aaatattcaa agagcattat taatcatggt 35520
taatttaata aaaattaaat ccaaccatat catattattt cacggcgcgcg ggtaggaaaa 35580
tgcgcagctg ttgtcgttta cgggtgggaga gaaggacat tgtttatttc cagaactatc 35640
ttttataact cccatggaac tttaaaataa atataatcat tattatagca ttagtttttt 35700
tctgtctttt tttcccaa gagcgccgcg cagaagagat cgatcgcat ctccctgcc 35760
cgacgtgcc ggccgatctc tcattctctc cacgccctgc tcgtcgccga tctcctacac 35820
catccctgcc atctctctct tcccctcccc tctatctctc actgggtgccg cccacctctc 35880
cgtataagac aaactgcgtt gcggcggttg tttccgccgg cgctgctgct gcacctgtca 35940
gctagggcag gcatggcgcg ccgcgccgct tccgcgctg ttggcgccct tcgctcggac 36000
ggctcgatcc aaggcgagg aggcgcgcg gggggcagtg gcgccgagga cgcacgccac 36060
gtgttcgagg aattgctccg gcgtggcagg ggcgccctga tctacggctt gaaccgcgcc 36120

ctcgccgacg tcgcgcgta cagccccgcg gccgccgtgt cccgctacaa ccgcatggcc 36180
cgagccggcg ccggcaaggt aactcccacc gtgcacacct atggcattct catcggttgc 36240
tgctgccgcg cgggccgctt ggacctcggt ttcgcggcct tgggcaatgt cgtcaagaag 36300
ggatttagag tggaagccat caccttact cctctgctca agggcctctg tgccgacaag 36360
aggacgagcg acgcaatgga catagtgtc cgcagaatga ccgagctcag ctgcatgcc 36420
gatgttttct cctgcacat tcttctcaag ggtctgtgtg atgagaacag aagccaagaa 36480
gctctcgagc tgctgcacat gatggctgat gatcgaggag gaggtagcgc acctgatgtg 36540
gtgtcgtata ccactgtcat caatggcttc ttcaaagagg gggattcaga caaagcttac 36600
agtacatacc atgaaatgct tgatcgagg atttcaccag atgttgtgac ttacagctct 36660
attattgctg cgttatgcaa gggtaagct atggacaaag ccatggaggt acttaccacg 36720
atggttaaga atgggtgcat gcctaattgc atgacatata atagtattct gcatggatat 36780
tgctcttcag agcagccgaa agaggctatt ggatttctca aaaagatgcg cagtgatggt 36840
gtcgaaccag atgttggtac ttataactcg ctcatggatt atctttgcaa gaacggaaga 36900
tccaccgaag ctagaaagat ttttgattct atgaccaaga ggggcctaga gcctgatatt 36960
gctacctatt gtaccctgct tcaggggtat gctaccaaag gagcccttgt tgagatgcat 37020
gctctcttgg atttgatggt acgaaacggc atccaccctg atcatcatgt attcaacatt 37080
ctaatatgtg catacgctaa acaagagaaa gtagatgagg caatgcttgt attcagcaaa 37140
atgaggcagc atggattgaa tccgaatgta gtgacgtatg gagcagttat aggcatactt 37200
tgcaagtcag gcagtgtaga cgatgctatg ctttattttg agcagatgat cgatgaagga 37260
ctaacccta acattattgt gtatacctcc ctaattcata gtctctgtat ctttgacaaa 37320
tgggacaagg ctgaagagtt aattcttgaa atgttggatc gaggcattctg tctgaacact 37380
attttcttta attcaataat tcacagtcac tgcaaagaag ggagggttat agaacttgaa 37440
aaactctttg acctgatggt acgtattggt gtgaagccca atgtcattac gtacagtact 37500
ctcatcgatg gatattgctt ggcaggtaag atggatgaag caacgaagtt actctccagc 37560
atgttctcag ttggaatgaa acctgattgt gttacatata atactttgat taatggctac 37620
ttagagtta gcaggatgga tgacgatta gctcttttca aagagatggt gagcagtgg 37680
gttagtccta atattattac gtataacata attctgcaag gtttatttca taccagaaga 37740
actgctgctg caaaagaact ctatgtcggg attaccaaaa gtggaacgca gcttgaactt 37800
agcacatata acataatcct tcatgggctt tgcaaaaaca atctcactga cgaggcactt 37860

cgaatgtttc agaacctatg tttgacggat ttacagctgg agactaggac ttttaacatt 37920
atgattgggtg cattgcttaa agttggcaga aatgatgaag ccaaggattt gtttgcagct 37980
ctctcggcta acggtttagt gccagatgtt aggacctaca gtttaatggc agaaaatctt 38040
atagagcagg ggttgctaga agaattggat gatctatttc tttcaatgga ggagaatggc 38100
tgtactgcca actcccgcat gctaaattcc attgttagga aactgttaca gaggggtgat 38160
ataaccaggg ctggcactta cctttccatg attgatgaga agcacttttc cctcgaagca 38220
tccactgctt ccttggtata gatcttttgt ctgggggaaa atatcaagaa tatcatagat 38280
ttctccctga aaaatacaag tcctttatag aatctttgag ctgctgaagc attttgcagc 38340
tttgaaattc tgtgttgga ttttttctc ctacagtccg attagaggag ggatcttctc 38400
tgtatgtgta aatagcgagg tatgtatgtc acctctccga attattttga ctgtggttcc 38460
tggactgtaa acaagctatt atcttctggt gttgatgcca gaaaaaacac aaaagtttgt 38520
cgttatctct actaacggat cataaagggg tttgtaactg gagtttcaaa ctttaaggat 38580
ctaggcagta gttttgacat tagatccaac attgtgtagt attcatttgt gtgtatcaat 38640
ctatagggtt tcattaaatt tcatttgtgt actgtttagg tgttgaatat attgttttac 38700
ttgtttttta actgaacaaa agatagctga agctttgttc tttaccaa at gcagtagtga 38760
tcatacaaat atattttttt acggaacagg agattgtata aaatggtttc catcggcggc 38820
caacggcgac cgctctgctc tgaccacca cccaatccat ccatccactc gccgccgcc 38880
ctgatccaag cctccgccgc gcgacagcga cgcaccgccg tcgagaggag gaggcgtgag 38940
ccccatgggg accctcctcc ggccgcgtaa tgccgctgca cggttaaccac gcgcctctcg 39000
aggcctccgc cgctagctga tctcttctca tcctgtttgg gtttgggttt gtgatttggg 39060
tgttttttcc gcagcggtgg tgggtggtgt ggttgccgcg ggagggggcg gtggccgcgg 39120
ccgtggcggtg gagtgccagc tgcatcgggt gcaccgccgc cggggtccgc aggttgtgt 39180
ggcgacggcg agctgaggag gcggaggag actggtgagg gacacaggca ggcaggctct 39240
caaggctaag cttgttacag gtactgagac tagttactaa ttactttgat aatcagtata 39300
aataagcttg tgtagttaa tggcattgtg catttctgca cttgtaaatt ttacagaaga 39360
tggtcattca atttgaacct gcatctaata ttttagtgggt ttgagtttat tctcccagtc 39420
acagagtiga agaggcaagt aacctgtaag agaggactga acattaacac ctcttgttcg 39480
attaaaaatg accaaagagc atcaaacatg tattcgaggc tgttacttta atatggccca 39540
ttaatttggt tagttggcta tgtacatcct agttggtgca gtgttgtgga aaacggaata 39600

cgggtgtcgg atggacgagg tgccgtcaag cgattaatcg taatacggat gattaaacgg 39660
 aattatatgg atttttggcg ttcgactaa gatgtacata attgatgtta atggcaatgg 39720
 tggagacaaa atgcatcatc ttaataaaaa atatttgtat aaatctctaa ctatattatg 39780
 aaaatgccat ttattagttc aatagatatc aacactgatg gttagtagcg caatagcatt 39840
 gggcttggtta gtcaaaatag tgcagctggg ctgcaagttg caagtttatg ttagtttcat 39900
 aaacagacat ctgatttgtc gataaataac cgactaatcg tgccatacaa ctgtataatt 39960
 actctgaaat agtaatgttg ctccgacttg atgatacggg acggtctggc taccgtttcc 40020
 gttttgacag acgattaaac ggctgtgccg gtcgacttcc acaacactga gttggtgtaa 40080
 atgccagtta ccatttctat gatctaaaat aatcaactct tttagtatat tttcaaaaac 40140
 gaaaattcag tacacatgca tgaatcttaa tcttcatatc tagctcgta caaatcaac 40200
 aaaggcaccg tgcagctgg tgcacattag ctagtctgta cttagcatta tccactagca 40260
 ccttattttc atgcatatca tgctaatttg cttgccacg ttgagtggga atttttttcc 40320
 atgttttata atttatatat gttctagact tctacttcat gttcctgagc ctctagtatg 40380
 gctggttagca gactaggtgc tgaatgctgt ccttttttgc agactgaaga gaggagaaat 40440
 acaagactgt ccgttgtag tcagatttgt aaaaatagac actgatgtag tttatttttg 40500
 cccctatttt atatttaaca atacaaatat ataacgtatc ctaagaattt atcgtaattt 40560
 aggagaagtt gctcgtttca ttaaattaaa ttgggaagta aaaatgtgtg ctcgagtatg 40620
 tcaatgcaat cctgtgttct tgtttgaaga tatggtgtag ggcaggccag gattgaacac 40680
 tgaatggtaa gactgcttct gctttcagac gttattgcta aatttttagc tagttgcaat 40740
 tagtgctgtc acgccgatta agcagtagaa caaagtaatt ttgtcgtgac aaatgagta 40800
 tatttctttg aaaatcgaag cgaaaacgaa caaaagata gaagaaaagg gaaacttgg 40860
 aattactcca caaagagaac aaatttattg gtaagatttg atatgagatg ctcgattact 40920
 tggcttaagt taacaatatc aaatttgggg aagcaccaaa agaattattg tgacttaagt 40980
 taaagatatc aaatttgggg aagcaccaaa ggaattattg tgatggagtt gtgggtgcat 41040
 aacgttatth gctttgttca aatcctagtg actatgaata tgaatattaa tgcgtaaggt 41100
 aaggaattta ttgttaattt taggttcttt acgatttgtt ccggggacgc cattcggtaa 41160
 ctgtaataat gttttgtatt ggattcactt gtgttacatg cacgcactaa acatgtgctt 41220
 taccttttca ttgtttgtg cgttctgcgt ttgaatttga cgagattcca tggtcagctc 41280
 aacatgtcag ttactgcgtg tcaagcagtt actgcgtgtc aagcgatctt atatggtatg 41340

cgcacaaagcg attgtatacg gatatgacag tataacgtgt gatattgatt tttttatata 41400
aaaaaatacg atgttacttt ccttcataaa ggaacaaaga cttttttttt aaaaaaaga 41460
aggggtatta ctaaaaacaa aaatgtcaaa aacaaaatat cagtgcacat ggcaagtgtg 41520
ctcggcaatt ttttgtctgt actttaaaaca aaaatatctt tatatggtat tttttacaag 41580
gggtgtcaca atatttttaa ttagccaaac atctgcattt tattaaaaac tgtataaatt 41640
ataatttata ctctaaaagg ttgtgtacat ctctcttggg gaaaatgtat aagttgcgaa 41700
caaacattaa tccacgttat ataagtcaat ctgttattta accatagaaa gtaagaaacc 41760
tactagcgtg ttaagctaag ctctctttca ttctctttct tcttcctggt tttgcttcaa 41820
tcacttgtca agtgaagggt tcttaactac cattactcct actcaccaa tttttttctc 41880
agatctttcg taggtatata ttgatcctac atcttatgat ctttaagatga tctccttctc 41940
attatcctct gctgaaactt tagcttgaac cgtcatctac accacaattt gagcccccta 42000
gcacagagca caacgagcaa tagcttgccc ttacgttcat tatttagcat gcactactac 42060
taactacca ataataata catcggttat taaactgttt gtacagtta ataatgtcat 42120
tttatcacgt taacatatgt ttcatcaac accacaccgg ttttggcaca gttgcaaact 42180
tgcaataaca tttttactac ttctccacc cataatata caatctcgtt ccatactaga 42240
ttgctatatt acgggacgga tgaagtactt ctttccttcc aaaatataag aatatagtac 42300
tagattagat attatttggg ttacgaatt tgattaggct atctagattt gtagtcgtac 42360
gtaatgtcta attcggtaat aggttattac ctctttggat ggaggaggta gtttttattt 42420
cgtactccct ccgtttcata ttataagttg ttttgacttt tttcttagtc aaattttatt 42480
gagtttgact aaatttatag aaaaaaatta gcaacattta agcaccacat tagtttcatt 42540
aaatgtagca tggaatatat ttttataata tgtttgtttt tttattaaaa tgctactata 42600
tttttctata aatgtagcca aatttaaaga agtttgatta cgaaaaaaaa tcaaaatgac 42660
atataatatg aaactgagga tgtagcagac tatagcaa ataaactatg cttttatttt 42720
agagcatcac caaaagatta gcaataattt atccctaaa ttcaagtttt gggtttctta 42780
aactgaaaat aggaagtga aaatcttttc cgtccaagag atagcctaaa tcttatctta 42840
actaattaaa atattcataa ttttcctttc gtcacattaa attttcgtcc gtaaatecca 42900
ttgaaatcca attggacaat ccaaaaaata gagaaaaaga acagaaaaaa taataaaaag 42960
cacacaaatc ttatctcaat cccgcgggaa gctgccgacg ccgccgaatc cgctcgagcg 43020
ccgccgccgc cgccgccgct cacggggaac gatgtcgtg ctgtcgcacg cggtatggga 43080

gggcgccgcc gccgctgctt gggagatagg atatggagag agaaggaaat gtgagggagg 43140
 gttaggtttt tccccatccg tatcttcagc gacacggagg cgatccaagc tgtccatcag 43200
 atcggacggc tcagaacgcc tccatcgtca ggccgcgcac gcttgatggg ccgaggggaag 43260
 gccggagggt cgaacaaacg cagtcagagg aggagttgga ggaggtaaag tagaatttat 43320
 ttgcgggctg agatagtaaa tggactgaaa atggcccata gagaaattgg gaattttatt 43380
 taaataaatg ttgaaaaggt gtttatatta tcaaaattag aaattaagct ccgaaaattt 43440
 taaaaaatat tcaagagca ttattaatca tgattaattt aataaaaatt aaatccaacc 43500
 atatcatatt atttcacggc gcacggtagg aaaatgcgca gctgttgtcg ctgacggtagg 43560
 gagagaaggg acattgttta ttccagaac tatcttttat aactcccatg gaactttaaa 43620
 ataaatataa tcattattat agcattagtt ttttctgtc tttttttcc ccaagagcgc 43680
 cgcgacagaag agatcgatcg cgatctccct gccccgacgt cgccggccga tctctcattc 43740
 tctccacgcc ctgctcgtcg ccgatctcct acaccatccc tgccatctcc tccttcccct 43800
 cccctctatc ctccactggt gccgcccacc tctccgtata agacaaactg cgttgcggcg 43860
 ttggtttccg ccggcgctgc tgctgcacct gtcagctagg gcgggcatgg cgcgccgcgc 43920
 cgcttcccgc gctgttggcg cccttcgctc ggacggctcg atccaagggc gaggaggccg 43980
 cgcggggggc agtggcgccg aggacgcacg ccacgtgttc gacgaattgc tccgccgtgg 44040
 caggggcgcc tcgatctacg gcttgaaccg cgccctcgcc gacgtcgcgc gtgacagccc 44100
 cgcgccgcgc gtgtcccgt acaaccgcat ggcccagacc ggcgccgacg aggtaactcc 44160
 cgacttgtgc acctacggca ttctcatcgg ttgctgctgc cgcgcgggcc gcttgacact 44220
 cggtttcgcg gccttgggca atgtcattaa gaagggattt agagtggacg ccatcgcctt 44280
 cactcctctg ctcaagggcc tctgtgccga caagaggacg agcgacgcaa tggacatagt 44340
 gctccgcaga atgaccgagc tcggctgcat accaaatgtc ttctctaca atattcttct 44400
 caaggggctg tgtgatgaga acagaagcca agaagctctc gagctgctgc acatgatggc 44460
 tgatgatcga ggaggaggta gccacactga tgtggtgtcg tataccactg tcatcaatgg 44520
 cttcttcaaa gagggggatt cagacaaagc ttacagtaca taccatgaaa tgctggaccg 44580
 ggggatttta cctgatgttg tgacctaaa ctctattatt gctgcgttat gcaaggctca 44640
 agctatggac aaagccatgg aggtacttaa caccatggtt aagaatggtg tcatgcctga 44700
 ttgcatgaca tataatagta ttctgcatgg atattgctct tcagggcagc cgaaagaggc 44760
 tattggattt ctcaaaaaga tgcgcagtga tgggtgcgaa ccagatgttg ttacttatag 44820

cttgcctcatg gattatcttt gcaagaacgg aagatgcatg gaagctagaa agattttcga 44880
ttctatgacc aagagggggcc taaagcctga aattactacc tatggtaccc tgcttcaggg 44940
gtatgctacc aaaggagccc ttgttgagat gcatgggtctc ttggatttga tggtagcaaa 45000
cggatatccac cctgatcatt atgttttcag cattctaata tgtgcatacg ctaaacaagg 45060
gaaagtagat caggcaatgc ttgtgttcag caaatgagg cagcaaggat tgaatccgaa 45120
tgcagtgcag tatggagcag ttatagggcat actttgcaag tcaggcagag tagaagatgc 45180
tatgctttat tttagcaga tgatcgatga aggactaagc cctggcaaca ttgtttataa 45240
ctccctaatt catggtttgt gcacctgtaa caaatgggag agggctgaag agttaattct 45300
tgaaatgttg gatcgaggca tctgtctgaa cactattttc tttaattcaa taattgacag 45360
tcattgcaaa gaaggaggagg ttatagaatc tgaaaaactc tttagactga tggtagctat 45420
tgggtgtgaag cccaatgtca ttacctacaa tactcttate aatggatatt gcttggcagg 45480
taagatggat gaagcaatga agttactttc tggcatgggtc tcagttgggt tgaaacctaa 45540
tactgttact tatagcactt tgattaatgg ctactgcaaa attagtagga tggaagacgc 45600
gttagttctt tttaaggaga tggagagcag tgggtttagt cctgatatta ttacgtataa 45660
cataattctg caaggtttat ttcaaaccag aagaactgct gctgcaaaag aactctatgt 45720
taggattacc gaaagtggaa cgcagattga acttagcaca tacaacataa tccttcatgg 45780
actttgcaaa aacaaactca ctgatgatgc acttcagatg tttcagaacc tatgtttgat 45840
ggatttgaag cttgaggcta ggactttcaa cattatgatt gatgcattgc ttaaagttgg 45900
cagaaatgat gaagccaagg atttgtttgt tgctttctcg tctaacggtt tagtgccgaa 45960
ttattggacg tacaggttga tggctgaaaa tattatagga caggggttgc tagaagaatt 46020
ggatcaactc tttctttcaa tggaggacaa tggctgtact gttgactctg gcatgctaaa 46080
tttcattgtt agggaaactgt tgcagagagg tgagataacc agggctggca cttacctttc 46140
catgattgat gagaagcact tttccctcga agcatccact gcttccttgt ttatagatct 46200
tttgtctggg ggaaaatatc aagaatatta taggtttctc cctgaaaaat acaagtcctt 46260
tatagaatct ttgagctgct gaagcatttt gcagctttga aattctgtgt tggaattctt 46320
ttctcctaca gtcctattag aggagggatc ttctctgtat gtgtaaatac cgaggatatgt 46380
atgccacctc tccgaattat ttttactgtg gttcctagac tgtaaacaag caattatgtt 46440
atgctgttga tgccagaaaa aacataaaag ttgtctgtta tctctactaa cggatcataa 46500
agggatttgt gactggagtt tcaaacttaa tgtgtctagg cagtaatttt gacattagat 46560

ccaaaacaat ttatagggtt tcattaaatt tcatctatgt gtactgttta ggtgttgaat 46620
agtttgactt gttttttaac tgaacaaaag atatgtctga agctttgttc ttaccacaaat 46680
gcagtactga tcatcacaat atatttttta tggaacaaga ttggattgta tagaatgggt 46740
tctgatctga ttatcttate tcaacgtatt attatgcaca tgtactaatc atgaaatate 46800
tgatggaatg atgtttctat ttacctgtgt gaggcagcaa ggagtgageat ggataacacc 46860
acatactccc tctgtcccag aatataagaa gtttagagt tggacacgat tattaagaaa 46920
gtaggtagaa gtgagtagtg gagggttgtg attgcatgag tagtggagggt aggtgggaaa 46980
agtgaatggg ggagggttgt gattgggttg gaagagaatg ttggtagaga agttgttata 47040
ttttggggag tacattatta ttctagaaca atactgttgt gctcaagaag cgttccaaag 47100
atgtttcaca acctgtgctc gatgggtttt gagcttaate ctgggacatt cagtatcatg 47160
atctgtctca ttcttaaaca tggaataaag gatgacagca tgatttcttt gtctctataa 47220
tcttttggct acccacagat aatagctgta aatctatact actttaaaag gagtagtggt 47280
ggtggtgagt ggtgaatctg ccaccacccc accaccaact ctcaaaattc tgacatgtgg 47340
gatcactgtc aatcccttct ccaagacatg tgggatcact gtcaatccct tctccaaacc 47400
aattgtatga tagaacagtg gaaatcacgg acagaccatg gagctctcaa ccataatcat 47460
ccttgcgagt taataacaaa tggagcgtaa acttggcaag caaaaaactc aaattaattc 47520
taaaattaag ctctaggatt caaaatagat ttctctctg cattgtgctg ttatgatttt 47580
taattccgta acaacgcaaa tgcattttgc tagtcttata aagaagggtt aatgcaaata 47640
ttctgattaa atgattgtat ctatgaagtt tgaatgctag tggaagctcc ttigaccatg 47700
ttttgttgtg cgagcattta agagagtga gagaatgctt ctttgggtgt gttctgggtat 47760
ggaaggatcc acagataaaa ttcaggttct actgcttctc tgcttgtaat tticatgaag 47820
ctgcagtga taccttgttg accacttgat ctgttgcttt gaaggagaat atagtagtgg 47880
ccaaggttgg tgacgggtgat ggtggcatgt gatccccag atcttcagtg acccagagag 47940
gaggggacgg cgcggtgtga gctacaaggc atactcagtg gagggcaaga tcaaggcctc 48000
ccgtccgtag gggactccgc tgcataagg ccaactgctc cgaactgac aatttctggt 48060
acggatcact tctcctttcc tttttttttt caccttaagc actctcttga ttcttcgctg 48120
ctacctccct taatttcttt caatatattg tggcacttga tcatggcgga gaccacctt 48180
ccagtgtgaa tggattttgt caaagaacta aatttatcc attagcttat ttccgatta 48240
catggaagac attcttttct ggaataaata cagaactaaa tctgtttcc tgaataaaaag 48300

ttgttagtgt gtggcatggt gcatttccgc gcttctaaat ttataaaaac ctgttcattc 48360
aatttgaacc tgcattcaat ccaatatattt aggtgcagac aggtgcttgc ggtcagggtta 48420
aagaagttgg caaaaatgct tctgaagaaa ggtaattgt tgtttcatct caggaggtaa 48480
tatgcagatg attattccaa ttggcatigc cttgccattt ttatcacgag tctttacaat 48540
tttatatcct cctacatatt ctttcagat tccagatgat ccagtgtctc caacaattga 48600
ggcgcttatt ttgctccata gtaaagtaag tacacttgcg gagaaccacc agttgacaac 48660
acggcttggt gtacatcaa acaaagttgg ttgtattctt ggggaagggtg gaaaggtaat 48720
tactgaaatg agaagacgga ctggggctga aatccgagtc tactcaaaag cagataaacc 48780
taagtacctg tcttttgatg aggagcttgt gcaggtaatt tatttgcca tacctacacc 48840
agagatccat atattacttt tataactgca gtttttactt gttaacattt catttgtctt 48900
ttacatttgt tccaagcttt caggttgctg ggcttccagc tattgaaaga ggagccctga 48960
cagagattgc ttcgaggctt tgaactagga cactcagaga tggaagttct tccaataatc 49020
cgacaccttt tgcccctggt gatggctctc ctgttgatat cttgcctaac aaggattca 49080
tgctatatgg acgatctgct aatagtcctc catatggagg gcctgctaata gatccaccat 49140
atggaagacc tgccattgat ccaccatatg gaagaccaat atccacaata tggaagacct 49200
gccaatgac caccatatag aagacctgtc aatgatacat catattgagg gttgaacaat 49260
gatgggcctc gtgatcaggc ccggtcctga ggggggtcga atggggcgat cgctccgggc 49320
ccccgattc ccaggggccc cacctatctg tgcaacgagt agtagcgatc ttccagcgcg 49380
caacgtgagg cgatgtttct ccgtgatttc gccggcctgc aactgcgaga tcgagagtat 49440
aacgatcagc cgatcgatct catctgccga ctgccatgct gatgccacac gcaagcgag 49500
catatcagcc ttatcttggt tgatcggcat gctggacgag cacatctgtt gtcgcatcaa 49560
ctgctgactg ctatatatgt gctggtgctg aatcgatcga ttgtcgtcac ggaagtgaag 49620
aacaaccacg gcactgctgc ctgctgggct ctagccgcca tcagtaagta cgctatactg 49680
cctatctaga tctagatcga gattacatag tggaattatc tgtttataac aaaattacaa 49740
ggtatcaatt gataatttaa ggttataacc gtacaaactt cagtgatttg ctggtttcac 49800
attggttaga ttgtttcaa ctaatttgggt acttctgtag ctttgtaatt tacgaatcta 49860
gtattaatat ttcttaagt attagcctgt tccttgatat tatgctgttg agaaagtatg 49920
caatagataa caaaaacaag taggtgtgtt gaggatgctc aagagtaata caggcacttc 49980
aataattctg atattatcag gacatcatca ataattctgc gcctacaaat cttcaaagaa 50040

aattttaata taatgcgtat gattttttaa atacgaatat tgattgctat ttaaagatat 50100
ttatattata tggtaattat tatttgaagg ttataataa aggcctccgt ttttagtttc 50160
acgctgggcc ttcagaatct caggaccggc cctgctcatg atccttacac cgtgtatcct 50220
gtagagtact tctctaaaag agagtaccct agtggaaagta gcaaagtgc accatctgct 50280
tcatacgaaa gatatgcagc aactactcgc ttgcctaata gagaactgcc ctcatctatt 50340
agtcctggtg ccgattatat gtcctgccgt tcttatcttg accaagtacc tactgatagg 50400
tactctaata gggttacact acaattaggc ctcttgagag ccgggaatag taatgtgcaa 50460
caattaggaa tcaccagagc tggaaattcc aatgcttatg attatactga ggtacatttc 50520
caatgcgta gcttgcctct tctttgcaaa tggccctcgc ctgatatgtt tccattagaa 50580
acatgaaacc atatatttga ctgttgcatt atgtctatct tcttccatga tggttcagac 50640
gtctgaaaaa aggacaaaaa tattctagaa tatgtcatgg tgatccaaat atatccttct 50700
gtcttgtgcc cactctaata tctatcgttg gtaacactat tcaattgtta ccatgttggt 50760
gcaaacccta gattcagtta ttcagctgtt ctctgctgct gttgcttacc agttttctta 50820
gttgggtgtt gatcttttct catTTTTtTat ttcttgttt cctggttcac ctgctgcctc 50880
tctgatgcat ctgaatgtat atttttgttc tcttcagtgc ttaatagatt taaatttcat 50940
tcttttcagg ctgcggagct gatccatgga cgtgaggatt accgaagact gtcaggcttc 51000
actgggtatg gcttacgcag actgaatttt tacaggacac aaacatgaat tttgtcctca 51060
taatcattga gtgatgatct ctttgcagg atccagggtg ctctgtcgaa ttgtggattc 51120
caaatagtta actggagtct gtcattgggtg ttgggtgtgt caatctagct gagatccgtc 51180
tggtatagcg taagagaaac atcatgcact atccccagtc ataaccatgc ccaatggcc 51240
accaatagtt ttctctgtga aaatctcccc ttgatccag atctctgggtg cgagagtga 51300
gttgcacgaa gccatcctg gttcttccga gtccattgtg gagatccagg gcattccgga 51360
tcaagtgaag gccgcacaga gccttctgca aggccttcac ggcgcaagca gcaacagcag 51420
gcaggcgccc cagtcctctc gcatggccca ttatttttag taagctggag gacattcgca 51480
acaggggggt cagtggtcac tgcaaagctg agtttgttct tcagttcaac tgcagaaaat 51540
tgcagatcgg ttgccgtagt tgctagaacg gtacatagtt gccacctaac tgtagcgagt 51600
ggcataactt attgtgtgtt actgcccact gttgtctctc cttgtgttca tggattcaga 51660
cttgtgattg tagtatttct ggatcagact ggagtaaaag aaaaaaaaaa aggaagacat 51720
gggtttaaca gtaagctcaa aacgttgaca gtagtaaaat aaaaggggtt tgttcacttt 51780

atttccaata tcaaccttac caacatttgg cgttgaatca tttataccac atcgcttgtg 51840
cagctgaatt tggggctgtt taaaagatgg tctcttggat tgctaattgc ctgcggcaa 51900
gcgtggtacc ttgtacaata taaatataat tataactatt taatttcata attaaacatg 51960
ttgtacaaa tctctactat tataaaaatt gaagatgttt tttgccgta ttttggtagc 52020
tcatctgtgt atgaatccgt ttttaagttc gtttgctttt ggaaatacat atctgtattt 52080
gattcagttt ataagatcgt tcacttttgg taatacagaa ggaatcatat aagaattctg 52140
tttaaaaaca ctctatagt aacttgagac gatcagacgc ctaactacag ctcatgattt 52200
tctaaatata tatatatata tatatatata tactagaaaa aatataatgtg tgttaaaagc 52260
tatcttaatc ttattattgt tatatatatt agttaacaag aaatctattg tgggaacttg 52320
tttggatata tttttttta aaaaaaatca tgagctgcaa ttaggaatcc aatcgtctca 52380
agtttagcagg agggcgagtt tttttaaga gatttcttat acgatttctt ctatatttct 52440
aaaagcaaac gaacttaaaa accgactcaa acatggatct gtatttccaa aaacgaataa 52500
acttaaaaac cgactcatgc acagatgatt aatttttata atagtagaga taaacgaact 52560
cccacagtga attttatttt aactgaacca tataacaata ataagattaa aatagacttc 52620
accggttgca atgcacgggc attttttcta gttaaagaag aaataaaaaa acacaaaaat 52680
ttataaaatg taaaaaagaa aaatattata attttgttag aattattatt ataatataga 52740
aaaatagttg ccaaatttc tcaacgaatg tcgaataaac tcagcaatgt catatattta 52800
aatatgatgg taatatttgt tcgcaaaact ttaatcttca atccttcaac aacatagata 52860
tacaacgtcg taatcgcaa caagcccgag tgaccataca ggatagccga gcggtggatc 52920
tgtactgttc ttgggtgaaa taaatctagt acattgtata tcttatctta atatctacta 52980
ttataaaaat tgaagatatt tcttcaaaga tttccatacg ttctctactc cgttacaata 53040
tcggttctac tccgttacaa tatcggtttt gtacaccccg cgcacgcgtt gtgtgttctc 53100
ccgttccaat acatgaagct agagtcttgc ttctccctgg tctggcaggc cttttttcca 53160
ccatccccac cagggccagc gggttacatt gaccgatcac ggcccacatt agtggatgca 53220
gccagccagc ctcttcacaa atcatgtgat gaacattagc tgagttaaaa tttatccttt 53280
gatgattgtt agaaatgttt ttttctccac atcttctctt tcaattttgg aaaaatagat 53340
ttcttgattt ttgtgctcgt acatcactaa taaatcagtt gttacccttc cacacattgt 53400
caatttacca tgtctatttc agctcttacc ttgtatagtc ttgactcttg agtcctcgct 53460
attgactaag ttgtacatg cctcctacaa atcaatagac tgccataaca atattttcta 53520

cgacatgac catattagtc catgcaatgc aagtacacac acactactgc acgaaaaaac 53580
 tatgcacat aacttcaaaa ctaacatgtt agaatgacgt taatttttca ttacaattat 53640
 attcatcgac cgtaaattta ctaggcatcc tgttttaaaaa aaatattcac cgaccatacc 53700
 cacatgttcc gtagttcatt aggtgatgga tcggtagtta cagcagctgg atttttatat 53760
 tttggtcatt ttgaaaaatt tatttcgcaa atagactcct gaaaaaactt atcccagaaa 53820
 tagtcccttt tggagcgtca gagtggctgg cgccgtggtc caacgggaca gcgccaacct 53880
 ctctggcgcc gcccccgcc tctattcttg tttctctata tagagttgca aactttttat 53940
 ttttgtttta ttttttggga tgttttttca ctcttagaat cagatacaa ccaactacaa 54000
 aaaaaattaa actcgaacgg aatatacac ttagctagaa gtctgaaaat atagcatacc 54060
 acttatctac ttgcacctt caccaaaatt agaccataac ttcttttagta aaatcctttg 54120
 atcagcatat taaacataat gcactctatc actaggtgaa attacttaat ctaattcaaa 54180
 atataactac atgtagcctt gaaaaattct acatgccaca tatttcgtcc gtttgagttt 54240
 attattttta tggttcgttc atgtgagttc ccaagtgtga aaaaaaaata aaataaaaaat 54300
 aaaaaagttg cacatcctct cctctgcatt agagaggaga ggagaggaaa aattctacag 54360
 gtcacatatt tcgtccattt gagttcattt tttctatggt tggttcttgt gtgttcctaa 54420
 gcgtgaaaaa aatatcaaaa aaataataat aaataaaaaa attcgggggg gggggcgcc 54480
 agccactctt aggggtgaaa acgatcggat aatatccgat ccaatctgct ccgaatccat 54540
 ccgaaataag gatatggtat gggtttttag aaatctggcg gatatggatg cggatgagga 54600
 tatggtatct ccgaaatacg acggattatc cgacattttt gtcggattat ccgataggcc 54660
 ctttaccgga taatccgaaa ttatgaacac atgtaaccac tctatctatt gcatataaca 54720
 taagttggtc catccaatga cctaattcat caattaccct agatttctta ctatgtggtt 54780
 ttcaccattt catgtcacac ttgcgtagct gtatttttat aaaatggaca tcatgtattt 54840
 atgttggtta gcacttaagc acataattat tacaatgggt cgtttattga cattgtgtta 54900
 ttttacttg cattgctaac tcaatgttgt attgattgca tacacacgta acatctgata 54960
 aaatttaatc cgtttctgaa ccgattccgc accatttccg acatctgcat ccgtacacta 55020
 tccacacca ctccgaatcc gcttaaaaat atggtttagg atatggtatg accactatcc 55080
 gtccgaatcc gctttatttt caccctagc cactctggcg cgcttcccct gccacctcag 55140
 catcgtccca ccacgtcggc agaaggacgg cggctccagc cactctggcg ccacaaaaaa 55200
 ggaccatttc tagcataagt ttttttaggg gtctatttac gaaataagtt tttaaaagga 55260

ccaaaatgtg aaaaatccag gttacagcag actgtgataa gcaatagcta tattgcctat 55320
 atatacacgt atatgcattg ctaatccttc aattttgtcc aattctttta aattgtcttc 55380
 acctgttgca acgcatgatt ttttttctag tcttaacctt aactaatctt aataactaac 55440
 taaaagattc gtatcttttc gatcgtcacc ttgtccatac gctaattttt cgtccgtccc 55500
 ccctccccct caaaaaaaaaa gggaaaaatc cattttacac cctcgaactc ttatgcttgt 55560
 ctaaaatata cccccgaact ataaaaccgg gtataatata ccctcgagct atcaataccg 55620
 gacagttcaa ggggtgtatta tacctggttt ttagtattgg ggggtgtatt tagataagca 55680
 taagagttca agggcgtaaa tggacttttc ccaaaaaaaaa atcccagtcg ttactttcca 55740
 tcctgagaat cggagacagg gaaaactgaa gcatacacgc aaatagaatc aaagataggg 55800
 aaaactaagc atatacacac aaatatatcc aaaaattccc atgcagctag atcgggtgcc 55860
 accgttggtg ccaaaccacc acattgcaat gtaaatctaa gactaaagcc taaatcctat 55920
 gctaagtcac caaattagac tcggttctac caatttggtg atatatcaaa ttagacttga 55980
 tttttactga tttgaggttc tcgaggtgtc acactatgaa acggaagttt ttcccgttgc 56040
 aacgcacggg cactatgcaa tatcttaact aattaaaaga ttcataattt tcctttcgtc 56100
 acaccgatct ttcgtccgtc tgtaacatca cgtgcacctc ctctccaaat cccacatcat 56160
 cataatccga ccaaaaaaca aaatctcaat ctcaatccaa tcagaatcat cacaaaatca 56220
 tccaaaatat caagagatga ttataggaga tggaggggtg agcaggagca acatcatcat 56280
 cgcataaaaa ccccaaaatc aatcacaaca acgacatcat tatcacataa gaaaaacaat 56340
 acaaacaca tacacaatca acaacactgg cggatccagc cgaggggaca acggcgtggc 56400
 agcgggcaga tcctctcggt cagatccgcc cacgggtgcc actgacgtcg ccgccgccac 56460
 cggatccaag ggagaagctt cggacagagg gagagggggg tagaggaccg ctaaatccgc 56520
 ccaccggaaa tgccgccgcc accacctcg tcggatttgc ccgagggagc gccgatgccg 56580
 ccaccgccat cgcgggagaa gcttgggcac ggaggggtgag gagggggggg ggtagagaat 56640
 cgccggatcc atccgctgga aaagcctccg ccggatccgc ctgccggaaa caccggtgtc 56700
 gccgcctccg ccggattcgg tagcgggagc cgccgatgcc accaccgccg ccggatccgg 56760
 tcggtgggag cactgacac catgccgcc gcctcctctg ctaccgacaa gggagagacg 56820
 agaggggcgg gggcgagggc gggggacgag agggttagag ggagggaccg agtgggagag 56880
 agagggacga gtgagaggag ggggacgagt gaataaggat gcgtgacctt atccactcgc 56940
 gcggtcgcac cccggctctt tctctcgctc agctgttgcg cttgtggaga ggatgcgaga 57000

tttttttttg agtaaaatgc acgggcggtc cttaaacttg tagcggctcg tcattctaggt 57060
tcccaaactc tcaaaatgca tatccaggtc ctagaatttg tcaaagtgtg tcattctagat 57120
cccaaaccga cacatcctct cttggatcct acatggcgct aatgtgactt gtcacatgga 57180
cgtgacacgt cttttttttt cttcttttct ttttcttttc cgttttcttc tcattcttct 57240
ttttttccat cttctgctcg ggtcacatag aaaggaaaag aaaggaaaat acaagagaag 57300
aaaaaaagaa aaaagaaaat ttttaaattg gtctcattcg tcagtcaaaa ttatgccaca 57360
tcattgtccct gcgacatgcc acatcagcac cacgtagcat cctgaagggg ttgtggcgat 57420
ttgggaccta aatgacacac tatgacaagt tctaggactt ggatatgtat tttgagagtt 57480
taaggattta tatgacacac tactataagt ttaaggaccg cccatgccct ttactttttt 57540
tttttacacg gagagaatgc gaatttggtg gttagttgcg gctgagggtt tctcgcacgg 57600
agaaatttgc ggtgggagaa ttttttttcg aggttcttct tattgggaga agacgggatt 57660
atagggatta ttactggtgt ggtggcccct gtttcttctc ttttcgagc ttctttccgt 57720
taaattcact tttctctctt caaggagcgt aggacatgac tgaatgcagc tgctgtaaat 57780
tagaaataaa aaagaaacat attctgtttt tcattttttt caataggtaa atataaagat 57840
ttttaagtaa tttttaaaaa tatatagtgc tgatcaacga cattgttaag tgagattttg 57900
ctgttactat cacttttttt tccattgggc tcacgtacgg cattaaaagt tttagttttg 57960
gttctctcct tttgagtttg ggcataatcc aatattgaga taggtatact aaagttcatt 58020
tggattttat tcgattcaac ttttttgggt tttgttcagt tcttttttac atgtttctca 58080
tctgaaatta ggaaattagg tttggtaaag tcttgaatag ataacgctgt tgacgtttga 58140
acatatattt atctatttat ttatttaaaa atatatgaat aatttttatt ttgttatgac 58200
ttttgtcggg gacatgggac cgggagtatc atgactagag gcttgggcag gagcgatcac 58260
ccacgtggcc tgatgtaaca tcctgaaaat tcccaacaat aaaaatcact aaaattttga 58320
actttttaaa acttttgcac catgctgggt gttatgattg ctattgcttg ccaaaccgta 58380
aatgatcaca aagaaagtaa agtaaggatc taaaatttaa gtaatagata aatttacgag 58440
aatataatat ttaattgcta accctacaaa taattacgca caagaaaaca aagccagaca 58500
aacggaaggt taattactaa tttaaattat ggattaatta ttaaatactt gaaccatgtg 58560
ttgcgtgcca tggcatctaa atacacatga aataatggtc atataattaa attaagcttt 58620
ataaaattat gtgaggtttt aattaagcaa ttagcttaat gttgtaccga gtcttaatat 58680
actattttata gaataaataa attcaacctt tccgtgtaaa atatattgct ataagttcat 58740

tcaatgtact attgtaataa taatggccac attaggatat ttttaattaat tttggaaccc 58800
 tcaaagcctc caaaattatc taggttaatt ttgaaattat acctcattta agtaatgcaa 58860
 tagaaaaata tacataaaaa taaaatatgg gtaatattag aaattgagta aattttcatc 58920
 taaattaaaa catatattgg gtaaacctcc tttatgtaaa aattaagatt tatagaatga 58980
 aatttgtaca aggataaac taaaatcggg ttaaataga aatggcactg ttcattgcac 59040
 tctaggtgct cgacgtggtc cctggcccta ttttccccct cagccgcgcg cgccgtgctg 59100
 cctcgcgccc cgcgccacgc caccgcgctc gcgtcgccgc tgccgcgccc tcgccgtcgg 59160
 ccgttccgcg ccgctcgtcc gtcgctccgc cgccctcgcg cccgcgcccgc gtcgtcatcg 59220
 cgtcgcccgc gccatcacgc cgccctggccg cccctgaccc cgcgccgcgc cgcgccgtcc 59280
 cgtagccgcg tgcgcgttcc atcgccgctg ccgcgcccgc cgccgtcacc gcgcgcccgt 59340
 cgtccgcccgc gcatagcccc gcgcccgcgc gccatcgtgt cgccgcgccc tcgctcgtcgt 59400
 ctcgagcccc gcatccctct cgagccccgc acgtcgcgctc ttgtcgccgt tgctgccgcg 59460
 tcgtcgtcgc cgatgctgtc gcgtcgccgc tgccgcccgt cgcgtcgcct tgcgccccgt 59520
 gccgcccgtg ccgcgttgct gctgtcacct tcgctgccg cctcgtgccg cgcgccaccg 59580
 ctgccgcccc gtcategccc gctcgtcgc cgcgccgccc ccgctgccgc gccgtcacgc 59640
 tcgtgtcgcc gtcggcctcg cgccctgagc cgccgcgcgc ccgtccccct gcgcctgcgc 59700
 cccgcccgcac ggccgtcccc tcgccgtcgc cctgcgccac tgccgcgccc cccgtcccat 59760
 cgcgccgagc cccgtgccgc cgcgcgcgct gcgtcgcccc gcctgtcacg ccgctcgccc 59820
 cctcgagcca cacgcgtcgc gccgtcgcgt cgccattagg gccggccacc ctttccccg 59880
 cgccctataa aacccccgg ccacccccct ttcacccac accatcccca cccattcccc 59940
 tcttctctc ctcttcccc tcttctgccc ctccaccgcg ccgcgcccgc gccttcgtgc 60000
 cgccgcgccc tgccggtcgc tcgcccgcgc ctcgcgccgc cgcaccgccc cttcgtgcc 60060
 gccgcgcccgt gcgcccacgt cgtgccgccc tcgccgtcgc cgtcgtcgtg ccgccgtcgc 60120
 cgtcgcgctc gtcggtaagc cgccgtccct tccctcgttc cgacgccgtc gccgcccggg 60180
 tggaaggag ccgagagaga gagggaggaa ggagccggga gtaggaagaa agaaaagaaa 60240
 agagagagag agaaaagaaa agagaagaaa agagaaaaga gagaaaagaa aagaaaagag 60300
 attagagaag ggagggaaga gtgggcccc cctgtcatta gccccatcca attcccccta 60360
 gaaaaataat tctgtagaaa agaaaatcaa gatcttgacc ccacctgtca gtcactatag 60420
 cgtgtggata aggttgtatt aaaaataaat gaattaggaa cagtactatt tcgcaactat 60480

tagaattaat tcaaatttga atctttacac tagcataact aattcatttt agctccgatt 60540
tgagtggaac ttgaacctaa attcatctaa attcataagc tttccaatgg tatataattt 60600
actattaaat aaaatatatt tataattatt aagtaattaa tatcatatga ttaggttatg 60660
gtcaacttaa aaatatgcta ataaataaaa ttagtattgt ggatgtaata atatttgtct 60720
ctaacatgtc ttgccactgt aacaaccaca caaactaata ttaagtgatg tctgaaatga 60780
atgaatgaat aggaaaatac tagtacttgt ttaatatctg atagccatat aattaaaccc 60840
atggcttata ggttatttaa atcaaagtga gccttgtgat tatgcaacta aaatataaac 60900
acatatagat gaatcttttag cttgattagg aggaataata acagagctag tgtgactagt 60960
tatgatatag cttgttgtcg gttgcctata tttagtaaag ggttcaatgt taatacactg 61020
atgcacacac ataccctttt tgataacctc ctagttgcat atattaaact tggtaataaa 61080
tgaagaacca atatattagc taaatactgg tgctagttaa aaatcttgac cacacataat 61140
tttagttcaa accacacctg aggattgttc gttataaagt tataaagtta taaagttata 61200
caaaagataa tatgtaacta taatagtatt aaaccacaaa tctaaaatac agggcgcata 61260
attgtcaacc ttttatgcaa acggataata tccatatata tacatcatgt ggataattcg 61320
aataatagct ccattggtaa aataataatg taggcgaatc atgggtgatga gatggtttat 61380
cctaaacctc cccatcgaca tagccatgct atagggacct gaccatttta ccttcataac 61440
agatctcttc cataagccaa tagctagact aaaccacaga ttagcaaatg tgtacatcat 61500
atattgtgct agttagtacc aatagaacca tcaggacaat ataaatacta aggaatctta 61560
gctcttagct tgattagaat ccaatagcaa acacgagtag tatgagcagc cttaggttcg 61620
acctcaataa ttatatattg cttgtgcata attgcttctt gttgaatatt ggtttttctc 61680
gcatattata gaaattgtat atcggttagt cgtgaggcaa cgtatgcagc tttcaggagg 61740
tgaaggttga tcaagattgt atcaagaata atgactattc taagcaggca agtcatcact 61800
attccttgaa catgttgatc ctaattgcga aattattttg tttacaaata aaattgcatg 61860
caatgatgaa catcctactt gtgattatgc catgccttga ttattgttta cccttaaaat 61920
ccttgtaacc atgattacgt atgagtcctt agtcaattat gacaattgct tagagatgct 61980
attctagaat catgcatact catatttatc aaatgctata tgcttgggca attacctttg 62040
ggaaggtaat tgagatgcgg catgtggaga catgaacgcc acattgccat gatattaatg 62100
acatgatttg tgaaaggaga aataaaatta aacaactgtt ttcgactggg gcggacggag 62160
gatttgggtg gtatctggaa aaggctagta ccgtccccgg tcaattaagg accgagccat 62220

gaagttaagc atgaaacgac ccccgtaaca cgcacttct cgtatgggta tagacctagc 62280
 ggagtagata gctgagcgga ggcagtatcc atgcatagt gtttcttgat gtgtgaggca 62340
 ggggctctac ggtggggcag ccattggtag gaccgcaagg cgggtatcta cagtgggtgc 62400
 gccatcggta ggactgccat gtgagaatct aaaacataat tataacttaa tgcattgtgtg 62460
 agtcttcct tcccgggtgc gccagaactc ctctcactgc tagaaaccgt gtacgcctag 62520
 agtgcattgag gatgaaaagt tcatggagcg ggtactgcca atgcgaggtt atcgaaaagc 62580
 tctgccgtga cgcattctcat gtgttgggac gaggctcatg tgttgggcag tcgaggagtg 62640
 cgggtaaagt gtacatccac tgcagtgtga gtaaaccaaa tctattcgaa tagccgtgct 62700
 cgcggttatt gagcaccggg acatgtatta cacttggcta gactctaaat tcttaacttg 62760
 tggggaatgg gatattgcat gatgaatttt atgctgatgg agccacatcc cgagaggagg 62820
 gaagggtggac atcctcagaa aaccatgacg attcaatggc gggaagctat ccttgggatac 62880
 acaatggatg gtggacagaa ccgtcgttgt ttaaagtga cactgggtact aaaatttgat 62940
 cgatctatgc taggttttag gcttgtgaaa agaattgtaa aattagcttt atgcaaaagg 63000
 acctgaagcc attccttgaa ataccctcta tcatatgcat tgttattatg gtggcttgct 63060
 gagtacgggt ggtactcacc cttgctattt atatatcttt taggagagtg ttgaagagaa 63120
 gcccttgctg gtacgcttgc gtatcccaca agatgatcgg agtgcggtct tgttctaggt 63180
 ctggtttccc cagtcgactg cctgtggcat gttaccggg cccttatatt atttgtctt 63240
 tcgctgttgt tctctgatag ttgttggcct acctggccct aatgtaagta ttaactctt 63300
 ttagcctaaa ttcatcgtg atatgttgt atccaactat gtatgtgtgt accaactact 63360
 gatccaggga ttggtacgga taaacacaga agatttccga tttccaaaat cgggggtcta 63420
 cacctgaccc cctcaggggg ggggggtcgg gcccgagggt gatgtggccg cccctctt 63480
 tgtctccccg aggggtcggg ccgctcccgt ttctgccccg agggctgagg cgccccgacc 63540
 ccttgtgggt ttgtcgccgc gtgtatgggt taggtgagca caacggggct cacctaaccg 63600
 tatttattgt ggtttgacg agcgcgtcac gccgcatgta gcgcagtga gcgcgctcgt 63660
 ttatccggtc tgtgaccagt cacagaccgg tcagatcgtg ggtaggtgg caacaggcgg 63720
 tctgacacac gcctcgcccc atcccgtcag gataagagcc tccaggcact tgtccctagc 63780
 ccggagccag catgctaact cctggagatg acacgttggc cccggtcaga tatatgccag 63840
 gttcatccc aaccattaca agcaagatat tgtatgaaga agggcgaaca tgcagattgc 63900
 tggactgaca cgtggtggac aagaatgacc gatttgtgac cggctctgaca ctggtcatgt 63960

cgtcggcaga caaccatgtt cccacgttgc acctgctttc ggccggagtgg aggtaggtat 64020
gggccatccc atcagaaggt cgttcggaca gcagccattg caagtctccg cccatttatg 64080
aagagatgac aggggtgatcc cctggagaga aaaaaaggag gaccttgccc acttaggagg 64140
tgaggacgac tggaagggga gaggatctgg agagtagatc ccacgagagg aaaaaaggga 64200
gaagagggtt tctagagtaa gagctctctg actctccagc tctttgtagc ttcttcgtac 64260
acagatccac cagaaaatag gagtagggta ttacgcttct cagcggcccg aacctgtata 64320
catcgcccgt gtcttgtgct tttttcattc tcgcgaactt tccacagact aggagcttag 64380
aatctcgccc agggcccccg gccgaaccgg caaagggggg cctgcgcggt ctcccggta 64440
ggagccccac gctccgtcaa ctttggtta taattaaaaa tactctaagg atatTTTTTT 64500
atatTTTTatt ttcttatgtc tatatgaaat tttaaataag atagatggtt aaacatatat 64560
tgaaaaaaca tatatccaaa agtccactat cacaagcgta gcatagatac gattacaata 64620
cgtttccgcg aagactgttt atacctactc tattccctgt tccttgtgcg gttgtgccat 64680
ttggggctgt tttttcatct cggattaact cgcgtaggaa ccgcgagacg aatgttttga 64740
gcctaattaa tccgtcatta gcatatatgg gttattatag cacttatggc taatcatggc 64800
ctaattagac ttaaaagatt cgtctcatga ttacatgca aactatgcaa ttagtttttc 64860
tttttatcta tatttaatgc ttcatatatg tgcctaaaga ttgatgcga tgttctggga 64920
aaatctTTTT ttaactaaac atgcccgaagg tgtttctcca attaatgga cccaaaatca 64980
ttcggcgtca cctttgtctt tcactttcct tccactacaa ggtgatgaca ctgacaaaag 65040
gtccaaaagc tacaggatct gatTTTTgtt catccatctg tgatgtgtcg gcaagccatc 65100
catggagttc atccactcaa ctctctctc tcagagagag agagagagag agagacagac 65160
agacacatgc atgatagatt gtgctagtac ggtagtaaca ttttattgcc tccttttcta 65220
aaattctagg ttgtttggaa aacaaaaatt ctagattgtt caataaatta ataattatag 65280
gtatttattt taagtcactt taggtgttaa ttttgaatt ttaaactgct taaactctct 65340
ttcgacgcat ctgagagcag gtacaatagc agactataag ccagctataa atatatttta 65400
agtagataaa agaggaaaaa taagagtagc gggctataga tttgtagaca gctgcagcgc 65460
gagctccaag atacatatgt gtatgacatg tgagaccaa cattaattat gtagtatatg 65520
tttatatgta tctattgtat gaattggcta ttaaattgac tatgggtgtg ttcggagggtg 65580
ggtgttggga accatctccc aagcacggaa aacggagcgg tcattatgg cgtgattaat 65640
taagtattag ctatTTTTta aaaaaataaa tcaatatgat ttttttaaac aacttttgta 65700

tagaaacttt ttgcaaaaac tcaccgttta gtagtttgaa aagcgtgcgc gcggaatatg 65760
 agggagaggg gttgggaacc tcctcatccg aacgcagcct atacatgatt tggagccaat 65820
 agttggctat aatattaaac ttgctctgag tggctcttga atcatcgaag tgatagaaat 65880
 catatgcaga aatgtttata tttgtgatgt aaaatttgaa tctaaaatta tttatatattt 65940
 gaaatggagg aagtactacc taaaacaagt atgagaaaga gacatgaaaa acacaaaatc 66000
 tagacttaaa aataattgga attactagca ggaggctgaa gtcaatcaag acggcgaaga 66060
 aaagcacagg ggacagcaga cacgttaaca cgtaagtaaa caaacaagtg gtttaattaat 66120
 tagggggccc tcaagtctcc cctaaagcca ctaaactga caggtttgtg taccatggaa 66180
 aaaagggtga agcaaaactt tattctctct ctcattagat taccagttgg aaagcaatcc 66240
 tgggacctct agctaactct attattgtag aacaacgttt tcttagagag agagagagag 66300
 agaaataagt caataaaaat tactactaat ccacttgaac cagttctgtc ggtgtcggat 66360
 gatttaccac atttgacgaa acggactatt tattcgacgt ttcgaaaaac acactttttt 66420
 agaaaaaaaa aactttctct tattagccac tcgttttagt tatataccta tccgagtatc 66480
 tgttaagttt atttatcaaa atatttaatt tatctctata attaaatata caatccgtaa 66540
 aaacaatcac gcagtaattc gtttcaaact gagcctcagc tagaaaatca aaatggaaat 66600
 gaataacaat agcaacagta gagttagttt ttcggcttat catccgcaac ccaaatgcga 66660
 attttaaaact tagccttaga gtttaatttt aaggcttggt taccatactt cattttccca 66720
 gcattagttt cttttgtcac taaaaattgt tttttaagt tgtttcgttc attttctcac 66780
 ggtttatcag cagtagagcg aagccattct tggagcctgt ttggcacagc tctagctcca 66840
 gctctagctc cactctttct ggagctggag ctacgcccac cagttttagg tgcacaaaaa 66900
 ttaggagtgt agttgggtgg aactctctca caaaaaattg tggagctgga tttagacagc 66960
 tccacaactt cactccaaac ccaactcctg aagttaaatt gataagttga agctctatct 67020
 atcaagccct ttttcttgat catgcttcta cctactccat ttttgtttct tggccctcac 67080
 aggaattgga aaggaaaggc gtatatgcat caatgcatgc atgcgcacat caacctcgtc 67140
 catcaaccat cataatcatc atcatctcgc cagctgacga aaatgacctg catccatcca 67200
 tcacggacaa tccaagcgaa caccgctacc aacatcacag ccaacctgtt tatcactagc 67260
 tcttgatacc actcctacat aaacactacg cgcaggttaa ttaattaagc gtgattactg 67320
 aagtaacatc taatcacgtc ctggttagcc ttaataaga caacagttag agcaggtaca 67380
 atagcagcag gatataagcc agctataaaa aaagagagaa aagagcaacg ggctacagat 67440

ctatagccag ctgtagcatg gacttcaaga cacaacgtgt gtataacagg tgggaccaga 67500
taataatagt gtagtatagt aagtaactat tatatatatt gactatagat gatttggagc 67560
tattagtgtg ctatagtatt aaacttgctc atagagcagg tacaatagta ggatattagc 67620
cagctataaa catattataa tgagataaac attgatagag aagagcagcg ggctacagat 67680
ctgtagccag ctacaacacg gactccaaga cacaacgagt gtatgacaga tgggaccaga 67740
tattagtagt atagtaagca actattatat aaattaacta ttacattggc tatagatgat 67800
ttggagttag tagtgggcta tactattaaa ctttttctct tagcaaaaat caagcgcccta 67860
atcacattag aggagtagct ttgagacaaa ccaattagcg gcgaatcaag cgatctgcgt 67920
ggtcgtacag tgatggggccg ggccggggccc acagcccgcac agtgacaggg ggcctgacgc 67980
atgtcagcct cagccctgga cgggagctag ccgttgtgtc cccggggggag gggagggggg 68040
cattcccatc atttcgcccc tcctccgggc ccacatctca gtgggggtaa aggtgtaaat 68100
tactgcgacc gcgagtccag cgagcctaga tttggacctt gtgtccgttt gactgaaccg 68160
gagctactcc ccaatacggg gggattgcgt tgtgtgcatg ccatgtgggc ccgagcgccc 68220
tttgttcgtg gctttgggtt ggaaaggtga ccgtgtgagc tgtgcggtgt tgtactacgt 68280
attagtataa atcatttttg ggtactactc cctccgtcca aagcttattt ataatttggt 68340
gtactccaac cgtccgtctt atttaaaaaa aatataaaaa aaattaataa aataagtcac 68400
acataaaata ttaatcatgt tttatcatct aacaataaaa aataactaatt ataaaaaat 68460
ttcatataaa acggacagtc aaacattgtc acgaaaatct aatgtttgcc tttttttta 68520
agaccaaggg agtatctacg aacaaagata atacatgtta taatcatgaa gccatgatg 68580
tgattagccc ggccgtttga ctaacctcac gagctacgtg gctgacaagt ttaacttggt 68640
aactccatca tttcggatac ttagagcatg tacaatagca gactattagc cagctataaa 68700
catattttta tgggataaaa gatgagagag aagagcagcg ggctacagat ttatagccag 68760
ctgcagcacg gactccaaga cgcaatatgt gtatgacagg taagaccata tgttaatagt 68820
atagtaagca actattttat aaactggcta ttagatcggc tatagataaa ttggagctag 68880
tagtggacta tactattcaa cttgctctta tatgatataa atattgatat aactatatga 68940
ttttgttaat gacatgtttg tttatggatg gactatgtgg ggtcggtcgc ctccgtagct 69000
gacaaaaata caaacttaaa acccctatct ataaaaatct aacttttggt tataaatata 69060
gatataaaag ttcataatta gagcctcatc ttttaaacga aaagagtact atgaaaacaa 69120
ctcgtaatac aaagactaat tacgacgaaa agaaaatagt actgacaaga ggaaagcagt 69180

gaacttgcac actccctccg taaaaaaaac caacctagac acggatataa cactatatat 69240
 ctagattcgt tcgttgtaac gaagtgtcac ctccgtatct aggttggttt ttctgtacga 69300
 aagaagtatg agtaaataa aagctatgta tacccttcgt caaaaaaaaaa aagtaaacct 69360
 tgtactgggt cgtgtcacat cctaataata tattgttttt tatggagggt gtacagttga 69420
 aaaaaattga tgtgttttaa ggatgaaaaa tatttgtaac gttggctatg taactctaga 69480
 aaaaaaatg cagtaataat aaaatgctaa tttgctggag tactagatta tagacaatcc 69540
 agtccaggac acgacacct ccctactctc tccacttcca ctctcaccgg ccaccgcgcg 69600
 ctctctctct ctctctcccc ctctctccgc aagattcttc ccccaaatac caccgatcc 69660
 accgccgccg cccgctcgcc ggagtcccat cgctgccacc gccgccggag ccgcggccccg 69720
 acgccgccg ggctgtcttg ctgtgtgtgt gaggagggtg agttgtctgc gctcgttccc 69780
 gcggccacct ccgctgtctg ctgcttctgc ttccgctggc attgcgggga ggtcgtgtgc 69840
 cgggggacgt gggggctcgt gttggagcgc ggctgccggt gaggtggggg gtgcggcgcg 69900
 gcgcggctcg cgctcgtcgc ccggtggcgc gggcgcgggg ggaagcgtac gggggaggggg 69960
 gagtgtggcg gcggcgcgcg gcggggtagg gacgggcgcc gccaccacca ccggctcgtt 70020
 cgctggcagg cgctacgcgt ccagatccgt acgccggtat gcttcgtctc gccgcaactc 70080
 tctccatttg attagtatcc cctcgccgaa acgaggcctg tgaggcgccc gctttctggc 70140
 tggcttccct gtactcgtg ctgtctcctg cctgttgggt taaccggtt ccatcgaatt 70200
 tgggtaagcg aaacatcgcc tcataatggc atttgggggt ctggcagcct taggctcgcc 70260
 atccgtcgcc gagcttccaa gtgaccggcg ctgtttggtg ttttgcttg ctgttccctg 70320
 tttgggtggc gcgctaaatc tttgtgctg cattgaattt atgccacca tatacagcaa 70380
 attactgagc tgaaataatt cggctaatta ggtccagcaa tatgacatct cgtggattga 70440
 atgctaagct gacattgtat cactgatgct ggcttatata taggttgtg agaagtgaag 70500
 atgtcgacag gtgaaacct gcgtgcagag ctatcatcca ggacgccgcc ttctggtttg 70560
 aggctatgga ttgtgattgg aatcagtatt tgggtggtga tcttctttat actaggtttc 70620
 atgtgcctct ggtccatata ccgaagggaag ccgaagaagt cctttgataa gattccagta 70680
 tctcaaatac cggtgtttc caaggagatt gcagtagatg aagttcgtga gcatgctgtt 70740
 gtcgaaaact tccgtgtgca agaaagccac gcgatatcgg tgcaggagaa acattacgag 70800
 aaagattcag ggaaaatgct ggcacacttg gttaggagta aatcgagtga tgccgataat 70860
 ttgagccaat gcagctcggg gtaccaatgt gatagggctg gtagctcgta ttctggtgat 70920

gaaggcagct cgggcaatgc taggaggcac ttttctcaat atgcaactgt ctcagcatcc 70980
 cctctggttg gtctcccaga attctctcat ctgggctggg gtcattgggt tactctgaga 71040
 gatttggagc atgcaacaaa tcggttttcc aaggagaatg tcattggaga ggggtggatat 71100
 ggggtagttt accgtggtcg actcataaat ggaactgacg tcgcaataaa gaagcttctt 71160
 aataatatgt aagagatcct gaaatctatt ctgcgtttta cagaacttgt gactccttct 71220
 gatgccatca tattaatttt cttttgatat ggtgctgcag gggccaggca gaaaaggagt 71280
 tcagggttga agttgaggct attggccacg tcaggcataa gaatcttgct cgccttctag 71340
 gatatttgtt tgagggaatc cacaggtaaa gctatttata aatcaccttt gctgatggat 71400
 ggctagcttt tgtttctact ggcacattat ttacttgcat agggatgtag gattgctctt 71460
 ggtctatgtc cacctactca ccagattatc tcaaggata ggttattcct gactgcactc 71520
 cttatgctat cgattttttc ctttccaaat ctgatgggtg gattcagcat gccagtgac 71580
 agattatgct cagtccacag aaaccttctt tggaccacca ttcttttacc atgaaaatgt 71640
 ggccatagct ccgaaagcta ggattcacta gaagcgcaca actgcttatt ggtttgtag 71700
 ttggctataa caaggcttta ctgaaatgta cttccatagt tcattacttt gtgaatgcct 71760
 gttcttggtc ttcacgttc ttctcatgca tgttcaatc taaatttgta ttcatgatat 71820
 gtccaagcta ctgtattctc caaagaaaat cagaagtcca ttcacctatg tattttccag 71880
 ttttccgcca ttttggatac tgctctagaa acaagttaat aatatagata tttatatggt 71940
 ttggccagtg ctgcttaagt gaccatcgag atagaaattg cttagaaat atactaagat 72000
 gttgagtgtc aggtgttttc ggataatctt gttaccaaca aataggtcct atgaatataa 72060
 tgggtgtctgc ttcacgtaat tcaaaatcca cactcagcca aaataatctg caatagggtg 72120
 ttgaaaatat gattatgttt ctcccttggt ttcacatga ctacagaaat gaacaatgtt 72180
 gctacatctt gtaataattt gtggttttca attgaacaaa acatccatca aatgatatct 72240
 acagcaatat attttgact tctgagcaca caatagggtt gagtgtattc gagtcatggt 72300
 cattgattta agctttttat ttcactacat aaccattgat ttgagtgtat ctaaggagtt 72360
 ctgtttccac aagtacttta tgtaaatggt gtctccttat gctttggcca tccaaactca 72420
 ttactgttgt ttaatatatt tagtggttag tgggtgccaa atctttcttt gtgtacatca 72480
 tactatgttt ttgtagtcta ttaaacttcc atcctatcat ctgacttggt atattccagg 72540
 atgcttgat acgaatatgt gaataacggg aacttagaac agtggcttca tggtgccatg 72600
 cgccaacatg gtgttcttac ctgggaagcc cgaatgaaag ttgttcttgg aattgctaaa 72660

gcgtaagaaa caaaccatcg tccccgtcaa aaagaaaaga attgttcttc actttagctc 72720
ttttatatgt atatgttttag ttgcataacc cattttccat aactgaattg gtatacaggc 72780
ttgcttattt acatgaagca atagagccaa aagttgtaca ccgggatatc aaatcaagca 72840
acatacta at cgatgaagaa ttcaatggca aactttctga ttttggcttg gctaagatgc 72900
tggtgtcagg gaagagccat atcacaactc gagttatggg aacttttggg tatgttgata 72960
tttttttggg gttagtatta atctttccta tgcttagctt ttactgttgg aatgtgcagt 73020
acttcgctta ttcatacagt ataaaatttt acatgctgcg aactttgtcc ttcgtatatt 73080
ataacaggta gctttctcat tgctatcatt gattcatttc aggtatgtgg cccctgagta 73140
tgccaacaca ggtctgttaa acgagaagag tgatgtctac agttttgggtg tgctattact 73200
ggaagcagtg actggttagag atccagttga ttatggccgg cctgctaagtg aggtgagcat 73260
atatcctaca atctcatgcg tattatgtat gttacaaaag tccgtactat tggaaattat 73320
tttacggcaa aataacgtct atactaggag agacgaattt gcttcagggtg tatggctgtc 73380
tggcagttgt ctactgtcta gttacccttg tctcactttt acagtctatt gttttatttt 73440
tcaggagctg actagctgta taccttgtca tatataacaa cactgtaacg tggatgcctt 73500
gcaggtgcat ctagtggagt ggctcaaaat gatggttggc acaagaagag ctgaagaggt 73560
agttgaccct gacatggagg tcaaaccgac cattcgggct ctttaagcgtg ctctcctagt 73620
ggcactgagg tgcgtcgacc cagactctga gaaaagacct actatgggtc atgttgttcg 73680
gatgctcgag gcagaagatg tcccatcccg tgaggtggta acgctttctc ctttcctgca 73740
ataacattca tcatattata tcattgcaat aaatctgaag cttttgctgt aatcctactg 73800
aaggaccgga ggagccggag gggcaacact gccaatgcag ataccgagtc caagacaagc 73860
tcaagcgaat tcgagataag tggcgataga agggactcag ggccatcagc aaggtttcaa 73920
ctctaagaag acggtgatca tagtcaagaa caatggcttc aaaactctat gcagtaacat 73980
gggtggttggc agagaaaaag gggatatttct ggagggcatt gcattttgta ttgtaggtct 74040
gcatggcggt agagactgga gagagcacag tgtctgatga tggatacccg gagacctgta 74100
attcccatc agtattctgt ttgttagtca agcagcttgt acagatcggt gtctgttcca 74160
ttttttcatt cttctggttt ttttgttttag gaggtcttgg gattaccagt acgaaccgct 74220
gtctcttttc tagaatcacc aacatggaac ctatcaatat ttactactag tactacgact 74280
tgctttcttc ttgctgagat ctatcatgta ctgtacataa ctgacgtgtt cagctgcact 74340
tggacaagta gatgctcggt ctgtatgtcg aatttacttg atgaggtcga gcattaagta 74400

ccatggctgc agccggcttc tgtttagttg tgctgacatg cggcggcgac ctcacgctgt 74460
gtggcccatt cttgatcttg ggccgaaact gtagcaacgg gcgtacggcc catctatata 74520
gggattgttc ggcccgttgt agatgggccc gatcgggatt gcgacttacg tgcgacccat 74580
ttcggttggg ccggttggtcc gctacttcat ctagcagtgg tcggcggcag gggttcacaat 74640
tccaatagaa tccaaacatt attggattga gttaaaaaca caaaccaatc ggctttttgt 74700
caggttcaga aaattttaaa ctgaatttta attttttgac aaaaatctat ttagatttcg 74760
tctgtttttt taggtttgtc aacggattca gcgaaatccg atgatatcgc tcgtgagtgg 74820
atttttgatc cggatatcag attgtgaacc cttgtcgcgc attgcctgac aaagacaacc 74880
agtgaagcgc cgtgcgcgcc gcgtgcgcgc cgcgtgacgc gaagatgcgc aggaaggaac 74940
aagctggcaa gcggcgcgcc catgacggcg gcggcgacga cgacccgcgc gcgtgcgtgc 75000
gtcaacgcac gcgaccggcc gagatccgtc agtggccgcg gctatatata atacatcgtc 75060
gcctcacacc cccacacac cgagtcacg ctcgccggag ttagagttcg tagcggcgaa 75120
ggatatagcc atatattata gatggcgatt ggtgttggtg gctgctgcgc cgtgctgctc 75180
gcggcggcgc tgctcttctc ctctccggcc accacatgta agcacgcca tcttcttctt 75240
cttcttcttt ttttcttctt tttttttttt tttttgaaa tgagccgcag ctgacaaaaa 75300
gatcactcac acatggatac actgtcgtga cactaaccaa tgcctaagcc attttgtttt 75360
cttgttttgg attttcttt ttatgtgtat cacttttgct tgttgctctt gcagatgctt 75420
atgattccct ggatccaaac ggcaacatca cgataaaatg ggatgtgatg caatggactc 75480
ctgatggcta tgctgtaagt agcgggtggca gtacaccaac atctctacct ttattttcgt 75540
ctcaacctgt acatttacac tatcttggtc tactacctt aataaaaaaa tatatttgat 75600
gttttaaaat ctattaagtt ctagagatta ggaaagctac acatggtttt atgttttgat 75660
actattaagt agtatatttt ataagttata ttgaaggctg gggtttcaaa agtttgacta 75720
cactagatct tattcaaagc gtctaatagat tactgaacgg aggaagtatg aacttataga 75780
cttgaagtta aacagcatag ccacatctct tcatgtatac ttcacccgtt tcatattata 75840
agattttcta gcattatcca tattcatata tgtgcgtcta gattcattaa tatctatatg 75900
aattgggcaa tgctataaaa tcttataacc tgagaaacgg agggagtatg tcgcaaacaa 75960
caacaacaat aacaacgagc aaaatctgta tcgaatccgg tttccctctt gtaactgtat 76020
caaagatctg tcctctgaaa cgtcccctgt tcatcaggcc gttgtcacac tgtccaacta 76080
ccagcaattc cggcacatcc agccaccggg gtggcagctg gggtggacat ggcagcagaa 76140

ggaggtgac tggtccatgt acggcgcgca ggccatcgag cagggcgact gctccatgtc 76200
 caaggagggc agcaatgtcc cccacagctg caagaagcat cccaccgtcg tcgacctcct 76260
 cccgggcacc ccaatcgacc tgcagatcgc caactgctgc aaggctggat cactgagcgc 76320
 attcagccag gacccggcaa attctgccgc gtcgtttcag atc 76363

<210> 28

<211> 53905

<212> DNA

<213> Orza sativa Asominori

<400> 28

gatcagtgag tgagagtgat gtgctattga ttttcgtcta ggattttgct gtgctcttct 60
 tcttcttctc ctctctacca agaaagatcg atggaggaga atttgtagga cgcgtttctc 120
 acgaattact tagctgttaa tgatcagctt gatgtgtacg atatgatggt gcagagtga 180
 agttgtgttg ttcactgggt gatcatggga tgggaatatg ggattgttgt aagatgtaac 240
 tcaagtgttt tcttttttgg gattactttt ggtaataaga gcttgggtga tcgaaaacta 300
 cagatggttt ttcttttaag ttgtatgac tctgtagagt ttttgagtaa tttgtagttt 360
 tgtaccctat caaagatcat ctctagctgc ctctgagctc tccaactcta tatgtccatc 420
 tctagtatat atgtcccata tttctgactg aaaattttca agtcggttgg ttcctccgc 480
 ctggatatcc tttcagctaa ttagattttt tttaaagat aaatttgcta aaagcttggt 540
 caaattcagc taagatctat tcaaacttca atttctctat cgaaattccc ggaaatttca 600
 attcaatcat tcccgaatac atgccgattt ccgtaatat gaaccatgac atgtaaacaa 660
 cgaaggaatc aagggcataat ttagtttcat ctacatcga atatacggac acacatttga 720
 agtattaaat gcactctaata aacaaaacaa attacagatt ccgccagaaa actacgagac 780
 gaatctatta agcctaatta atacatcatt agcaaagtgt tactatagca ccacattgtc 840
 aactcatgac gcaattaggc ttaaagatt cgtctcgcag tttcctgacg aaccgtgtaa 900
 ttattatttt ttctacgttt aatactttat gtatgtgccc aaatattcaa tgtgacaacg 960
 tgaaaatttt tatttggaac taaataggcc ctaatatctt ttcaagatat tagaatagtt 1020
 atccctctcc acctccctgc acaaacagtg aacttctttc tccttgggca caggagtagt 1080
 agcagctccc ggaaacagaa agcaatcaag caaagtcctg aacctgaagc atcctgaaac 1140

cagcagacgg cagaaaccag tgggcgcagg cgatagcagt ttttcgtggt ccggcgtaca 1200
gccaaaatac tggccatcgg gtgcctacat agaatgagtc cactggacgc agctaccacc 1260
gtgtgtgcta cactgaccgc cgctgctcgt cgaccagttg tacggggctg acttattctg 1320
aattttcta at ggtttatttg ggggtttaga aactgaggg gtgctttaga tccaaagatg 1380
tgaagtttgg gcgtgtcaca tcgggtatta tatatagtgt cgcacagggt gtttgggcac 1440
taataaaaaat actaattatt gatcctatac gataagctat ataatactcg atgtgacacg 1500
ccaaaacttt acatccctga atctaaacac ccttttaaat agagtatttg gtgtgaaata 1560
taattttgat ttgggaagaa ggtgagttag atttggaata aaaaagcatt tcaattaaaa 1620
aatttgccag cagtaaataa agaaactact cggttttgta attaaagtga ggttttggca 1680
cttctttgcc cttaaactggc ctccatttta taaagtgaga accgtgcagc aaaagcctga 1740
aaaggcaaaa agaaagaaat tgtagagggt tttcaggagg atacaactag gtgggtctct 1800
aactctctat gcagctgtgg tctgtggagc aaaacgatga aatggaagac gggacgttga 1860
cgagggtgaa gaaaacgagc gtttgaccag cgtcaaccat ggcgtgaaca gtagcaccac 1920
taacctgacc gagagggtga agaagatgca atcaacgggg tactatagtt cccacgaatt 1980
tcccagcaac aacgggttgg ttctcactac tcacgaattc cctgtggctc aacaactact 2040
agtacatcct tttgtccatt atgataaaaag ttctatctta atttttatct acacgttttt 2100
caaactgttt ttaattttc tatataaaaa atacttaaaa tatcaaataa aatctatctt 2160
tgaggtttta aaaaactcaa ttaatcatat atattattga cttattttat tttacgtgga 2220
ctaaaatata ttcactctca tttagggtat gttcttttct catcaagata catgatacat 2280
tagcatgttt ttcaaactgt tttttaattt tgtatataaa cttactctaa aatatcaaat 2340
aaaatttact tttagggttt ataaaagtaa aactcaatta atcattacta acttgtttca 2400
ttttacgtgg actaaaatat cttcatcttc atctaagggt gtgtttggat ccaaggacta 2460
aatttttaat cctatcacat cggatatttg aactaatta gaagtattaa acatagatta 2520
atgatgaaac ccattccata accctggact aattcgcgag acgaatatat tgagcataat 2580
taatccatga ttagcctatg tgatgctgta gtaaactgt actaattacg gattaattaa 2640
gcttaaaaaa tttatcttac gaattagctc tcatttatac aattaatttt attgttagtt 2700
tacgtttaat acttttaatt agtatacatc cgacgtaaca ctgatcgata caaacaccaa 2760
ctaaatcgaa aatcaccgaa tggctcgtca tcctcccaca tgagatgcc aagatggaaca 2820
ccaacaatcc aacggctagg aagcgcccca tcccaccac cgcctaaccg ccttcctatg 2880

caagtgggtc ccaccccttc cttccttttt tttttctttt tacaaatccc cttccctttc 2940
 ttggctagct agctagcttg gcccaacgcc acgagccgag ccgagcacat ccggagccaa 3000
 gccgagctca ggcctcagc tccccctcct cctcgtccca ttcccggttt cctcctccga 3060
 tttcccccaa atccgcacgc ctctcccttc cgcctccatt tttcccgatt cccaattccc 3120
 aaatccggat cagccgcagc cgcagcagca aaaaatttcg aaatccaaat ccaaaccat 3180
 ccccccaag acgacgtcac ccacatcccc acccccgcga gacgagacga gacgactccc 3240
 aaatctctct ctctctctc ctatgcgcgc cgccgccgcc gccgcagcag cagcagctag 3300
 gaggcggagc agcagcagca gcagcagctg agatgatcgt gcgcacctac ggccgcagat 3360
 cccgctcctt ctccgacggg ggaggagggg agcgcggcgg cggcgggtggg ttctcgtcgt 3420
 cgcaagacgc gttcgaattc gacggggagg aggaggacga cctcgtcctg ctgggggtcgt 3480
 cgtcgcagtc gtcgcacccg cccgcgccgt cgcaggagtc gtcgtcgatg tgggacttcg 3540
 acgaggaccc gccgcgccg ccccgccggc ggccgggggag ggggtgggggt ggggactacg 3600
 cggagcccgc cacggcggcg gcggcgccgg cggcgccac ctcgctcatg gaggcggagg 3660
 agtacggcga gatgatggag agcgtggacg aggcgaaactt cgcgctcgac gggctgcgcg 3720
 ccaccgcgcc gaggcgggtg cgccgggcca gcttcctcgc gctgctcggg atctgcgcct 3780
 ccgcgccgcg ccgccgcgtc ctccgggccc aggggtcggg acaccaaaga accctccttt 3840
 ttttttctt acttgtctgc gctgtaagta aagaataaca attcgcgttc ttgctcttgc 3900
 ttgcggggca atcttggtga ggaatcttgt tagggttatg aaattgggca gccagttctt 3960
 gtttctctg cgtaatcttg gcggaaacag tgggattttg tacgattatg gctccgtaat 4020
 cggcatttct gtgggaaatg aaccaccttt agggcatttg accttcgaac agcatgcttg 4080
 gtgttgcaat ccgtagctat tgccttcac ttaggcacaa gaacttggtc tgaattatga 4140
 tttaccaact tgtgtttgtt ttcttggtct gagttttctt gcttggttag ggtaggggtt 4200
 atcaccgtgg tgggtgcagaa ttagatgttc gctacttgtc ttaacctctg ccttgcccaa 4260
 tttggtaccg agtggttacag ctgggtttag gaagtgtgat ctttgagcat ttctagcatg 4320
 ttggtctctt tattttgcta atctcacatg gttgtagagg aaggaagcat agtgactgat 4380
 gatgaatgcc tagatactag aaatacatct ttattaactg aattaggatt gcttgggtat 4440
 ctatgtagat atgactgtag aatgttactg ctggaaatgc tatccaatat ccattgatct 4500
 ctagccta atctctctc aggccaagag atcagtcaat tttgaacttt caggagagtt 4560
 tctatttggg acttaatctc ttttatttgt tacttttggg gcctggctct cttttcatga 4620

ttgctaagta gacaggtaaa gttctaccta aaattattct taaaagttca aaatcgcttt 4680
 agattaagga gtgccagcca gagccttagg cagagtctta taaaccaaaa gcacaatgct 4740
 acaatgttca caaaactttt gtggaatttc cacttgagct gtataaacat cgcaatctac 4800
 tgtgaataaa agaagcactt gatggaagtt catgttagca aatgacatgt tttctgtgag 4860
 gaggttgatt gcttgaactg ttatggactc ttgcaacttt ttatittact tcgtacccat 4920
 ttatgctaata gtgcacaaat aaaattgctg agagtaaaaa tgtacaactt gttacgcacc 4980
 agcacacttc ctatttgtat ccattttcct gttgaatttc aaatgtattc aattgctgaa 5040
 attgttccat tcaacaaaca catattccgt taatgaaatt attatacatt gcgttttggt 5100
 ttcttactca caagtgtcct cttttcttat atcctataga ttgggtgcaac aaattattga 5160
 tgcaattttg gttttgaaca ttgatgatcc tccctgcact attgggtgcag ctgctcttct 5220
 attcgttttg gcaagtgatg tgagtacctc tcaatcccat ccttgtgctt ctgtgcatgc 5280
 ttcatctat tttttacgca tatcgattgt tttcttttat ataacagccc ataaaaataa 5340
 tcacatcatg gcaaagttat ttatttctcc agtacagtta tataagtatt caccactttt 5400
 ccatgaatat cttggcatgt gattacaaag aagattatit aagaaagtcc atgcttttat 5460
 ttcatcattt tgtttgaagt tgaactttta tttatgggtg aaatttcagt taatattgct 5520
 agcagctcgt attctttaat ggcataactt cacttgtgct tattctccaa tatctccctt 5580
 cttgttggtc aggttcaaga aaatcatttg ttggattcag aatcttgtgt ccattttctt 5640
 cttaaattat taaatcctcc agtgaatctt gttgattcca aagcaccatc gataggttcc 5700
 aaacttcttg gaatcagtaa agttcaaatg cttaatgat caaataagga ttctgactgc 5760
 atttcagagg aaatcctttc aaaagttgaa gagattctct taagctgtca agagatcaag 5820
 tcgctcgaca aagatgacaa gaaaacaaca aggccagaac tgtgtccaaa gtggcttgct 5880
 ttgttgacaa tggaaaaggc atgcttgtct gctgtttcag tggagggtaa gttttaatca 5940
 aatttcttgg tcatgatttc cttttatgac cattataatt atttttatga gccaaataag 6000
 cagttgccat aagttacata gcacctgttt acaatattca tgggttggtt gcttagccct 6060
 ttgcttcacc tgcctttgat tgatgacttc catccgtgtt gcacaactga attggagtaa 6120
 ttgactgcac tagaagcacc tatggccatt gtcatactag gaaggttttc cttatcaaaa 6180
 tatttgattg ttacagagac ttctgacact gtgtccagag tcggaggaaa ttttaaagag 6240
 acattaaggg agttgggcgg tcttgatagt atttttgacg ttatgatgga ttgccattca 6300
 acattggagg tgagatctcg ctaacatcgc atattttaca cttcctttgt tcaactctaa 6360

aggatggtgc aagttttgtt cctttttgcc attttagctt taatgtgctt gaagccacat 6420
 gaaagcaatg cttgtccaga tacatagcca aaggttgta ttttttgga catggaaaat 6480
 gcttgaggta gtaactatct tcatcaggac atggaaaatt ggctgcatca caaattatgt 6540
 tgtttcatgt tgcaaaatag ttttttaata cttttttatt ctgcatgtgg tgtagtgctc 6600
 ttacagtgat tcctctgatg attatatccc ccacgataat aatacttgac atatctacac 6660
 caagtggaca ttattcattt ggatgttact tttccagcta tacttgctgt tcttgcataa 6720
 actttggagt aaattgcgta tccctttaag agataaactg cttgggtgctc ctatctgtgt 6780
 actttttatg cccccaacta ataatgcaat catattacgc tgataaactg aataaataaa 6840
 ttaacaatat acttctgggtg gaaacctgt gtatcagaat ctcataaagg atacctcaac 6900
 ttcagctttg gacctaaatg aaggaacatc tttgcaaagt gccgctctcc tcttgaaatg 6960
 tttgaaaata ttggaaaatg ccacatttct aagcgatgat aacaaggtaa tgttccttat 7020
 atattctgtt tcagtttagt acccatttct tcttctgta ccattctctc ccctcatttg 7080
 ttctgtgcaa aatgtgcaaa cagtgtgact ttgtatttct gcttaacatt tttctttttt 7140
 tcctgaaaag cagtataaac tcttacactc attttgcttc ttgcagacct atttgcttaa 7200
 tatgagtaga aaattgtacc cgaaacgctc ctgcttttct tttgttggtg tcattatcag 7260
 tattattgag ttattatcag gtatttttct taataatata atatgtccgc taacacaata 7320
 aaatgtttta aacatccagt atgttaaagt tgcagtctga cgcctatttt gttttgctgc 7380
 agctctttca atactgcaga attcttctgt tgtttccagc tctacatctc cgaaatcgtc 7440
 taaagtctct caacagagtt gctctggtaa taacaaacac caaatttggt tgatcaactc 7500
 gttggctttt ctgtgcactg tttcaatata gtttggtcgc cattcaagtc tcactacaga 7560
 tgttgaactt gacctgacac ggtggcacca atatttataa aacgctacct gatattttta 7620
 atatttcatg tttcctgacc cagattatct tgttggttcc tcatataagt ttaattagtg 7680
 tcgttcttga aactttgtta tgcagcagat gtcatggggg gaacttcatt taatgatgga 7740
 aagcgcaaga actcgaagaa aaaaaacctt ttgtcgaacc agacacgcca tagttgctta 7800
 tcttcaaaat cagaagtctc tcatattact atatcttctg gtagtgatgc tggctctgtca 7860
 cagaaggcat tcaattgttc tccatctata tcaagcaatg gggcatcaag tggttcatta 7920
 ggcgagagac atagcaatgg tgggtgcttg aagttgaata taaaaaagga tcgtggcaat 7980
 gcaaatccaa ttagaggctc aagtgggtgg atttcaataa gagcgcacag ttctgatggg 8040
 aactccagag aaatggcaaa aagacgccgt ctatctgaaa atgtaatcac cgacagtggg 8100

ggcggtgatg acccttttgc ttttgatgat gttgatcagg agccttcaaa ttgggaactg 8160
 cttggtccaa aaaagaaatc gcctcagaaa catcaagaca aatcaggaaa tggagtgcta 8220
 gttgcaagtc atgaaccaga ccaacctgaa gatcttaatc agtcgggtac aacatctctt 8280
 tttagtgcta aagatgaatc cagtcttttg gaagactgcc tcttggcatc agttaaggta 8340
 attaaatatg tttccttctg atctttcttg tttcttcttc aagagaatat acattcttgg 8400
 gtcacagttt ctcggtttgt ctttgtgact ttgttgagtg acatattttg aattcacaaa 8460
 atttcctttt caatatggct cctcaatcta tagcatctgt cgtgtatgta ttctgtacaa 8520
 aatagtattg taacatctcc tagaagaaat tggcaccatc catatcatc agtagcaatt 8580
 tatgagacgt gatcctgatt ggaggttttag gacagagcct cgagctaaat tgctattgta 8640
 ttgtatctac tatcttttag tacatgatat gtgctgggca ctctgtgtct gagtgtagt 8700
 agtgcttaag ttacatagt tcagctaaca tgcataatgta agacagttta tgattaaatt 8760
 taagtgtaga aagaaggtag tttcaaaaga tttttaagga caatataatt gtttcaccgg 8820
 gactcatgct tgttctgact gtgagcctaa tgttaccttt acatgccctt acattgtcta 8880
 ttttttatcg ttttatgaga tcttccaaac aacttgatct gtcttaatgt ttttttgcta 8940
 gctcctttct tggatatctg gtaaattggtt aggccgaagt atgaactttg ccttattgtt 9000
 tcaaagaaaa tgtaacaact cctggaaaag tctaattttg gttgcccttt attttgctga 9060
 ccgtattggc acacatctaa ttctgctgtt cctttctggc aggttcttat gaacttagca 9120
 aatgacaacc catctggttg tgaattgatt gcgtcatgtg gtggacttaa caccatggcc 9180
 tccttgatca tgaagcattt cccctcattt tgttttgtcg tggacaacaa ctataacacg 9240
 agagatgtca atcttgatca tgagttatca tcttctcaaa acagcaaggc acaccaggtc 9300
 aaaattaagc aattgcgaga tcatgaactt gattttctgg ttgcatattt gggcttgctt 9360
 gttaaccttg tagagaagga tagccttaat aggtaagtcc ctcacatgct tccttccatt 9420
 tgctcaattc atatcagtgt tactgttctg gcagttcctt ggggtcagga ctcagaaaca 9480
 tccaattaat gttcatgttc tcttaacgac tcagaaatac tttataacct ctccacaggg 9540
 tacggctttc atctgcccgt gttcctgttg atctatctca gaatccacag agtgaagaga 9600
 cacagagaga tgtcatagca ctctctgtt ctgtattctt agcaagtcaa ggtgctagt 9660
 aagcttctgg aactatatca ccggtaatc aaaattcttc aagttccttt tgtatgtaga 9720
 ttatatcttt gtaaaactcg gcatttatta cctgctcttt gtttcaaaaa gcagtatttt 9780
 atttgctcc ttagcatagg tcagcagaac agttgatctt attcagaaaa caatattttg 9840

catgtaacat actgttatct atgagatgaa aattaatgca tgtgtaataa tgtcaatgat 9900
 aaatatttgc tatctgaatc cagjctacca actctagtta gaccgaaatt actgagggttc 9960
 tatttcaaag aataatttag tgcaccattt gttcaactac tatgaagtaa aatgggtattc 10020
 ccttctattg acatcgggtt agaagtgaaa ggccatctta atgcaatgtt ctcaatgccca 10080
 caaaccaca aatttcatta acacatacag attattatta acatagctat aaattggatt 10140
 tccagaagct tgagttgaat ttattttgtt acaattgaaa gcactgggaa cattagcatt 10200
 tttttttagt tcttggttat tgcaatttat aatgttatac agaactgtgt acctcacaat 10260
 gcattcatta tgacattcta tgaaccattt gattgactgt tgcttgtaaa caacaggatg 10320
 atgaggagtc ttgatgcaa ggagcacggg aagctgaaat gatgatcgta gaggcctatg 10380
 cagcccttct tcttgcggtt ctttcaactg aaagggttgc aatctgtagt tgatggattg 10440
 ttttattaat gtctaactac ttgcataatg tcagcactat ggcatTTaac ttatactgtc 10500
 tgTTaactgc aacagcatga aggttcgtgg agccatttcc agctgccttc caaataacag 10560
 cttaaaaatc cttgtgcctg cgctagagaa atttgtggtta tgtctccata attcttgaac 10620
 tactgtttgt ataaaaaagt atggatgatac tttgaattta ctccattttg gaaatcatta 10680
 atttttcatg tctgagggtg gaggtgtcac cataattgta cttcccatcc aggaagcctg 10740
 ttgcaaaaat ttcacataaa taaggaaaat ttgaacttgt ttcaagtttg aatagtaaca 10800
 ggatgtttta tttctcaact ggagaaaaca ttccggctgg gacttttaac ccttaaaaatg 10860
 ctagtgtgct cccactgtaa gattgtctgc tgtcacattt gaaactttgt gtaatacctt 10920
 tatcactacc cttgagatga gagacacaat ctggtaccga gttaagttat tgataactcc 10980
 cagttgaagt acagcaccaa atcaagccaa catgttggct acgtaattaa atgttctctt 11040
 acaacagata gaggtaaaaa gggagtttct aagtatctaa cctcttacc tcttggttta 11100
 gcactccagg cacaactctt tcttaacttg cgatttagga cttgactctg agaatattgt 11160
 gtgcccacac tggttgagt catgcctatc taagctgcta gtttttgttc attttgatta 11220
 actctgaagc tgcctgagct tattctgctt ccatcattta ttaatccatc atgtttctct 11280
 ttcagtcgtt ccatctgcag ctcaatatga tcacagagga aacgcactca gctgtcacag 11340
 aagttatcga gaaatgcaaa ctttcataga aagagtgaag aggggcctgt acagatcaac 11400
 taacaacctc tttgcagcaa aaaagcatac acacaagtgt ttgtcttggc ctggggctct 11460
 gcagatggac tgatactctg acctgcagtg ggcttgggag ctaacaatgg tttcattctt 11520
 ttttttttta tgttttcccc tgttgttttt gctcatgttt tgtgtaattt tttcttctca 11580

tctagcgatg ttatttttct tagcatgatg ggagtagccc tccttttttt tttctctaatt 11640
 taagtgtaaa gtagcaacag catagggatg aatgttcagt gtagtgtgtg gtgtttcagt 11700
 tattcagaga cgtccataca gtttgtacct tgtgaccaca cgtcttaatc tgatgaagct 11760
 tagaataaat cacatgtag caatgcaata tcatctgcgt cttctctcac tttgggtggcc 11820
 atcaaattct gtgtagaagt gtatggttgg tgtgctgttg caaatgccgt attccgctct 11880
 gttttgtgga agttaagaag tccctagtgt aaataccgat tttcatgat ctcggagatt 11940
 gatgcaactc tgattgcagc atttcttttt attagaatgt acactccatg ctatcatgat 12000
 gtttattgtt tagtactaca agatttgggt aaccattatt ttaatatcat aataatttta 12060
 taaaatcttg gagtaacaag ttcataatac atgatagcat aactttttga ggctagtcta 12120
 tgtatattgt ctcctttgtt tttaaactaa gcactcaata aattattgat ggctgtaatt 12180
 ttctgaaggt ttcaccggtt tcggcccggt ctttataaat agcttcggca caaaagacaa 12240
 aacgggtccct ccaacacata aatggttgag tttacgtttt cattatcttt ggtaaaatca 12300
 agtccaccac gtagacactc ataacaaaag tttgaatata ctcagaaatt ttgacttgag 12360
 tctatcttac ctttgatata ggacatccaa cctccctcc ctcctgaac tttatattat 12420
 tcatattaca cctgaacttt atattattca tattacaccc tgaagtgggt ttcatttaatt 12480
 tgcatacatg ctgaaatagt ttgacaacgt gagatgcaca aaatctacac gtctgtctta 12540
 agttgcaatt cattttatcc cttttctttt tctctcttac ataggaatat caatagtact 12600
 aattcacatt acaatatagt ataaattgggt gatcgattat tggcaatata ctatattaaa 12660
 tattcaaaac tagtcattta agctgccaaa taagtaaacc actatcgaaa accacaatat 12720
 aaatggcatt acaaaaactta gggggttgaa tatccaattt taaagttcat gatgctagag 12780
 gaatttctat caaaagtta tgggtacata tggacttttt cttttttaaa agaagctatt 12840
 cttatcgtaa acgttaaata ttttttgtac tttatttttt atgattgaaa aaaaaactta 12900
 gttttcaaaa tgattgggtc gtatacaagc atcaattaga cttataaat tcatctaaca 12960
 gtttcctggc agaaactgta atttggtttt gttattagac tacgtttatt atttcaaag 13020
 tgtgtacgta tatccgatgt gacaacaaa ccaaaaatt tccctaact ccatgaggcc 13080
 ttacagatat atttgatggg tgtaaagttt ttttaagttc ttgggtgcaa agtttttaaa 13140
 gtatacggac acacatttga agtattaaat atagacaaat aacaaaacat attacatatt 13200
 ctgcctgtaa acaacgagac aaatttatta agcctaatta atctgtcatt agcaaacgtt 13260
 tactgcagca tcacattgtc aaatcatagc gtaattagc tcaaaaatat tcgtctcgta 13320

atttacatgc aaactgtgta attggttttt tttttcgta acatttaata ctccatgcat 13380
gtccaaatat ttgatgcgat ctttttggcc aaattttgtt ggaatctaaa caaggatcaa 13440
atttgctgaa tttttccaga cgtcacggct tgttcatcca tcgttcgcat cgcgattcgc 13500
caccgacgcc ttggtttcca acgaatttta tcatccgctt aaatacatcc aaagctctcc 13560
atcgccatcg gcggccaacg gcgaccgctc cgctctaccc aatccaccca tccactcgc 13620
gccgccccct gatccaaagc ctccgccgcg ccgccgtcga gaggaggagg aggaggagga 13680
ggaggaggag gaggcgtgag cccctatggg gaccctcctc cggccgcgctc cgctcgccca 13740
cgccgccggc gccggcgacg ccacgccgctc gaccgcgcac ggtagccacg cgcctctcga 13800
gaggcccccc ccccgccgct cgctgatctc tcttctcatc ctgtttgggt ttgggtttgt 13860
gatttgggtg tttttttttt tccgcagcgg tgggtgtgag cggtggccgc ggccgtggcg 13920
tggagtgcc a gccgcatcgg gtgcgccgcc gccgggtcc gcaggttgcg gtggcgacgg 13980
cgagctggag gaggcggagg gagaccgtgg tgagatcgga tttcgccgct ggtggtgccg 14040
ctaccatggg ggattcgccg caggcgctct caggtttgca gcctcctcca ctctcttctc 14100
gcaaaatgtg ttgctatgtt cctctcgctg ggctggcctc atagccatta atgtagtttg 14160
ctggaacatt acattcgga cgttgttggc aattgcttga caaaatgtgg aattgtggag 14220
gggagaaaaa tcgtttgaac ctgcagtgac aaaattgcca tctataattt taaaactgaa 14280
ggtgtggaaa tcaaacataa tcattgccag cacatcattc ttgttaacca ccttgacata 14340
ttgttggctt ataacagtta gctccacacc aacttggaag gtgtcaatgg aatgtaagta 14400
taaattgagg ataactggca gttgttaaga ctttctacag aacttgtagc agctaaaact 14460
agctattgtg catttatgtt tcatggaatt tgagcggcaa tggatatttc ttactaagac 14520
gtataatgca aaacaaaaaa aaaaaaaact atgtctatgc agtttacatg taatgtgcgg 14580
atgcaaataa aatcatgttc atggacaaac taatgggatt cataccaaat tccagaattg 14640
catttcttat gtggttactt ttgtttgttg atttggttac cagacatcga tgtggtttca 14700
agggtcagag gggtttgctt ctacgcggtg actgcagttg cagcaatctt tttgtttgtc 14760
gccatggttg tggttcatcc acttggtgctc ctatttgacc gataccggag gagagctcag 14820
cactacattg caaagatttg ggcaactctg acaatttcca tgttctacaa gcttgacgtc 14880
gagggaatgg agaacctgcc accgaatagt agccctgctg tctatgttgc gaaccatcag 14940
agtttcttgg atatctatac ctttctaact ctaggaaggt gtttcaagtt tataagcaag 15000
acaagtatat ttatgttccc aattattgga tgggcaatgt atctcttagg agtaattcct 15060

ttgcggcgta tggacagcag gagccagctg gtatggctgt agtctcatcc ctgctttctt 15120
aagtagacat atatacattt acagtatttg gtaaataaac aagattttat gaatcatata 15180
tgattttggg gaaaacacaa aactctcttt gttggctgcc ttgaacatag ttctgttcac 15240
acagttatag caccttcttt aaaatgaaga actttgttgc atacacataa ggccaaacca 15300
cataatgaat tttgtttatt tctatctttg aatgttagca tcgtttttgt ttaatgcatg 15360
atgccttcc tatatatttg tagtatgtca acattgtatt ccatgctgag cataacaaat 15420
ggtttgtaa aattcaggac tgtcttaaac ggtgtgtgga ttigtgaaa aaaggagcat 15480
ctgtattttt cttccagag gggactagaa gcaaagatgg aaagctaggt gcatttaagg 15540
ttcagtaacc aaacttaggt tacattacat ctaatgagat ttttatattc agtatataat 15600
gttaaccttc tcatggtgta ctgacgtggt tataaatgtc cccagagagg tgcattcagt 15660
gtggctacaa agaccggtgc tctgtgata cctattactc ttctcgggac agggaaactg 15720
atgccttctg gaatggaagg catccttaat tcaggttcag taaagctcat tattcaccat 15780
ccaattgaag ggaatgatgc tgagaaatta tgttctgaag caaggaaggt gatagctgac 15840
actcttattc taaacggtta tggagtgcac taaagaaaga tgggtgtttt tttattata 15900
tggaacctat tcaaaggcac agacaggctt tcaaggctaa gcttggtaca ggtactgata 15960
ctagttacta attactttcg taatcagtat aaataagctt gtgtagtgta atggcattgt 16020
acatttctgc acttggtaaa ttacagaag aggcaagtaa tatttttagag gattgagttt 16080
attcaccag tcatatagtt gaagaggcaa gtaacctgta agagaggact gaacattaac 16140
acctcttggt cgattaaaaa tgaccaaaga gcatcaaaca tgtattcgag gctgttactt 16200
tagatatggc ccattaattt gtttagttgt ctatgtacat cctagttggt gtaaatacca 16260
gttaccattt ctatgatcta aaacaatcaa ctcttttagt atattttcaa aaacgaaaat 16320
tcagtacaca tgtatgaatc ttaatatctt tctctagctc gttacaaaag caacaaaggc 16380
accgtgtcag ctggttcaca ttagctagtt tgtacttagc attatccact agcaccttat 16440
tttcatgcat atcatgctaa ttigtctgcc cacgttgagt gggaattttt ttcattgttt 16500
ataatttata tatgttttag acttctagtc cacaatttat gtacttcatg ttctgagcc 16560
tctagtatgg ctgatagcag actagggtgct gagtgtgtgc cttttttgca gactgaagag 16620
agaagaaata caagactgtc cattgttagt cagatttgta aaaatagact ctgatgtagt 16680
ttacttttgc ccctatttta tttttaacaa tacaatatata taacagatcc taagaactta 16740
tcttaattta ggagaagttg ctcgtttcat taaattaaat tgtgaagtaa aaatgtgtgc 16800

tcgagtctgt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atggtgtagg gcaggccagg 16860
 attgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcagacg ttattgctaa attttttagct 16920
 acttgcagtt agtgctgcca cgccgattaa gcagtagaac aaagtagttt tgtcgtgcac 16980
 aaatgagtta tatttcattg gaaatcgaag cgaaaacgaa tcaaaagtta gaagaaaagg 17040
 ggaaacttgg taattactcc ataaagagag tgcattttat tggttaagatg gtatccggaa 17100
 gctgtgagct ccgggctgta tgtattctgg caaatttgat atgagatgct cgattattgg 17160
 ctttaagttag cgatatcaaa tttggggaag caccaaagga attattgtga aggagttagt 17220
 ggtgcgtgac gttatctgct aggttcaaat ccttgtggct atgaatattt atctgctagg 17280
 ttcaaatcct agtgactatg aatattaatg ggtaaggtaa gggatttatt gtttaatttta 17340
 gtttctttta gatttgcca tcggacgcca ttcggtaact gtaataatgc tttgtattgg 17400
 attcacttgt gttacatgca cgactaaac atgtgcttta ccttttcac tgtttttgcg 17460
 ttctgggcta gaaactcaaa cgttgaattt tccatgggtc gctcaacttg acaattactg 17520
 cgtgtcaagc gatcttatac gcatactatg cgcacaagt attgtatacg gatatgatga 17580
 cagtataacg tgtgatattg atttttttta taaaaaaatg atgttccttt ccttgatgaa 17640
 ggaacaaaga cttttttta aagaagggtta ttactaaaaa caaaaatgac aaaaacaaaa 17700
 tatcagtgca catggcaagt gtgctcggca attttttctc tgtactttta acaaaaatac 17760
 ttctatatgt tcttttttat aagggtggca caaatctttt aaatgagcca aatatctaca 17820
 ttggatttat taaaaactgt ataaattata atttatactc tgaaagggtg tgtgcatctc 17880
 tcttgagaa aatgtataag ttgcaaaca acattaatcc acgttatgta actttttttc 17940
 gccggaaagg ccgaaggagg cctgacggag cgtggggctc ctcaccggga gaccgcgcag 18000
 gcccccttt gccggttcgg ccggggactc agggtgaaat tctaagctct ctgtatgtgg 18060
 aaggttcgag accgtcgaaa gagcataaga cacgggcgat gtatacaggt tcgggccgct 18120
 gagaagcgta atacctact cctgtgtttt ggggggatct gtgtatgaag gagctacaaa 18180
 gtatgagcca gcctctccct tggtctgggt tccgaatctg gaaaagtcca gtccagtccc 18240
 cccctctaag tgggcaagg cctcctttta tatcttaagg ggataccaca tgcacatct 18300
 ccctcctttc tgtggggact taccctacct ttccataaat ggacggagat ttgtatagtt 18360
 gccgtccgaa tgaccttctg ataggacggc ccatacctac ctccacttcc gccgaaagca 18420
 ggtgcgacgt gggattatgg ctgtctgctg acgacatgac cagtgtcaga ctggtcacia 18480
 attgtcatt cctgtccacc acgcgtcagt ttagcaatct acatgttggc ccttcttcac 18540

acaacatctt gcctgtaatg gttaggatga agcctggcat atatctaacc aggactaacg 18600
 tgccatctct aggaggtaac acgctagctc cagctgggga cgagcgccta gaagccctcg 18660
 tcctgacggg atggggcgag gcgtgctga gatcgctgt cgccacctaa cccgcgatct 18720
 gaccggtctg tgactggtca cagaccgat aaacgagtgc actgcacttc gttacatgcc 18780
 gcgtgacacg ctcagccaaa ccgcaataaa tgtggttagg tgagccccgc tgtgtcacc 18840
 taaccatac acgcggagca aaaaccacg aggggtcggg gcgcctcggc ctcggggcc 18900
 gaggcgggtg cggtcgacc ccctcggggg gactaagagg agggcgaaca catcacctc 18960
 gggcccgacg tccccgagg gtgccaggcc acgtgggcga ttgtgtctgc ctcaaactc 19020
 tagtcatgat actcctgac ccatgtcacc gacagtagcc cccggcgta tgccaggcg 19080
 atcgccctct ttaagggaag cggtcgggcg tgacgccact cctaaggcct ggtgacaggt 19140
 gggaccggtc tccacaattg ggcagaaacc caacggtcac aaatcacgca catcggaat 19200
 ggtaactcta ctatcaataa tgagcggctc cttcaagact gccacattac tcgagtagca 19260
 caggaatctg gacatggcga ttctgttctg ctggagatat ggtaacgtcg ctttggtcgg 19320
 cgagcgtaat taacgcgcgc acgatatgat ctatctcgac tgccacaacc gcatatccac 19380
 ctcatgcgcc gcaagcgggc gaatgggatt agtgggaagc tgggcgcgag aaacgagggg 19440
 gcgaaatagt gggcgcgaga agcagaggagc cgggcacagc gttggcaaga gtataaaggc 19500
 actgaggaaa ggatctgttt ccttccttc gccatcattt cccttgtctt cgccgcttgc 19560
 gccctaactc cttctttct gtgtctact ttcgccacac gcgtcgcctc tcaatcttct 19620
 cttctccgg cgccatggca cggggctccg ctctgctcga tggtagcgtg ctgccgcctt 19680
 cccgcacgt gagcgagagg caggctgggc tgccgcgcg cttcatgccg gaatctgcca 19740
 ccggccggga gatagtcacg ctgggtgagg gacgcccgcc gccagactac ccggggcggt 19800
 ccgtcttctt tctcccttt gcaatggcag ggctggttcc gccattttct tctttcttca 19860
 tggatgttct gaagtctac gatctccaga tggcgcacct ccccccaac gcggtgatga 19920
 cattggccat cttcgcgcat ctgtgcgaga tgttcattgg ggtgcgcca tctcttcggc 19980
 tgttccggtg gttcttcacc gtgcagtcgg tgtcgccgcc atcggtagtt ggtggctgct 20040
 acttccagcc atgggggccc gtgtgaatc gctacatccc ctgcgccctc cgcaagaagt 20100
 gggacgactg gaagagcgac tggttctaca cccccctcgc cgacgaagcg gcctctgac 20160
 ttccgagcca gccccggcg caggcctcca gctggcgggc gccggtagat ctgggggatg 20220
 gctatgacgc cgtcctcgac cgcctggcgg gcctacgac ccaggggctc acaggggcca 20280

tgggtgtacgg cgactacctc cgtcgtcggg ttgcgcgct ccagcggcgc gctcggggcg 20340
 cctggggagta caccgggtcc gaagactaca tgaggacca ccagggagtc agatgggact 20400
 gggctcctga ggatttcaag atagtgttcc aacgggtgct gaattctaac tccatggagg 20460
 cgtccctcat tccccaaaga atcctccctc tctgcagcga tccagaccgc gcctccatcc 20520
 tgaccattat gacggcggtc ggggcctcag aggagtgcgc tccaaagggc cagcagggcg 20580
 caggcgggag ccgtaggggg gatcaatcta cccggggagg gggctgtgct tctgggtctc 20640
 gcgacggagg cccgaggagc agccgccctg ccgacgcccg ggggaagagg aagcagggag 20700
 gaacacctcc cccatctcct ccccgagggg gcggggcggt gcgtgccaac agcaggcgcc 20760
 cggagggggc cgcgccgaca tcgcagcccg agggggagcg caagaagaag cggctccgca 20820
 agatggggga gacagaacca tctcggggaa acctatttc ccctccaaag tggctgttta 20880
 accgaccccc tcgcaggttc gtctctcacc catcgtggct gtattcattc tctcaacgcg 20940
 agttttcact caccatctt gtctgtcttc tggctttttc ttctgtttca gcgagatccc 21000
 gtcgcgtccc tcccgccatt ccaagtccgg ccagtctgag gccgaggatc cggcggccgc 21060
 agaggcccgg aggcgggaat ctgaccggcg agaggccgcg gatcgctac ggggaagccga 21120
 ggaggccgcc caggaggccg cccgggctcg ccagggcgag gaaaccgctc gggaggaggc 21180
 cgcccgggcc cgccaggccg aggaagccgc tcgggaggag gccgcccag cccaccaggc 21240
 cgaggaagcc gctcgggaga aagccggatt tcgccaggac gaggcaatgg cgacttccga 21300
 ggcagctcgc gatgaggtcg cgggcgcgtc gcttgagccc gcttcctcgg gcgacgtca 21360
 ggcgacaact tccggggcag ctggcgacga ggctgcgggc gcgtcgcttg ggcccactcc 21420
 ctcaggcgac gccaggacc aaccaggtct gagggacatc cccgagtccg gcacttccat 21480
 cggcggcccg agccgcgtgg catcctctcc aaggcggctc ttcccacgc cttctatcgc 21540
 cccgctgagc gcagagcccc ttctgcaggc cttggccgcc gcaaaccatc cggtgttgga 21600
 cgggcttagt gccaggttg aggccctgca agcagagtgg gcggagctcg acgccgcgtg 21660
 ggcgcgtgtc gaggaggggc ggcgctcagt ggaggccatg gtggaggtgg gccgcaaggc 21720
 acaccgccgg catgtctcgg agcttgaagc ccgtaagaag gtgttggcgg aaatcgccaa 21780
 ggaagtggag gaggagcggg gggctgccct cattgccacc agcgtgatga acgaggcgca 21840
 ggacaccctc cgccttcaat acgggagctg ggaggcggag ctagggaaaa agctcgacgc 21900
 cgcccagggg gtgcttgacg ttgccgctgc ccgagaacag cgggcggggg agaccgaagc 21960
 ggcgctcccga cggcgcaag agacccttga ggcgcgcgcc atggcgctgg aagagcgcgc 22020

ctgcgtcgtg gagagggatc tggcggaccg cgaggccgcc gtcactatcc gggaggcaac 22080
actggcggcg cacgagtcgg cctgtgccga agaggagtcc gcactccgcc tccacgagga 22140
cgcgctcacc gagcgggagc gagctctcga ggaggccgag gccgcggcgc aacggctggc 22200
ggacagcctg tccctccgcg aggcagcgca ggaggagcag gcgcgccgca ctctggaatg 22260
tgtccgcgcc gagaggaccg cactaaacca gcgggccgct gacctcgagg cgcgggagaa 22320
ggagctggac gcgagggcgc gcagcggcgg ggcggtcgcg ggcgaaaacg acttagccgc 22380
ccgcctcgct gctgccgaac ataccatcgc cgatctgcag ggcacgctaa actcgtccgc 22440
cggggaggtc gaggccctcc gcttggcagg cgaggtaggg cccggcatgc tttgggacgc 22500
cgtctccgcg ctagatcgcg ccggtcggca ggtgggcctc tggagagggc ggaccgtaaa 22560
gtacgccgcc aaccatggag gcctcgccca gcgcctctcg aagatggccg gggctctcca 22620
acggctcccc gaggagctcg agaagacaat taagtcatcc tcgagggacc tcgccaagg 22680
agcggtaggag ctcgtagtgg cgagttacca ggccagggac cccaatttct ctccatggat 22740
ggcgctggat gaggttccctc ctgggaccga ggacagcgcg cgcgcaggtc cgggatgccg 22800
ccgaccatat cgtccacagc ttcgagggct cagcccctcg gctcgcgttc gcccccaact 22860
ccgacgagga ggacaatgcc ggtggtgcag acgacagtga cgatgaggcc ggcgaccggg 22920
gcgtatcgga ttgatcccc aagccccgcg cattcttcag tttttcttc tttccttct 22980
tctaaggcct tcgggcctct tttttgtata gatcaactta atctgtaatc aaaaatgaag 23040
aaatttttgt gtcaatttca tcttgctgtg tgtatgagat gaggatgac tgtgacgtgg 23100
tccttttgcg tcttagcttg attaagggtc cgtgcccagg tcccagtcct caaaaggcgt 23160
gggtcggggc tagtgcctgg ggagatccac atgtcgagac tggccaggcc gggaacgtgg 23220
tgaccgaggg ttatgggtga cccgattgtg ggtttttgcc gattcccccc cggagttcac 23280
cacgccccgg ggacaggctc ggttctgggc ccggtttggc gatttttagcc gaccgagcc 23340
cccgagggca ggattgagca cgagtgcct atttcaagtc aagattcttc aaaaggaaaa 23400
aaaaacacag atacagcctt taggaaattg aaactgcttt tattgaaata ctgaaataag 23460
agaaataaga atgtgcatgt gtggcagccc ccggccaacc ctgcacgccc gagggggtgc 23520
ggggttggcc cgagccccga acctgacacc cgaccccccc cctcaggggt agaagcgacg 23580
aaggtgttcg atgttcacg ggtaggcag ctcaatgccg tcgcccgtgg ccagccgtat 23640
ggagcccggc cgggggacgc cgaccactcg atacggaccc tcccacattg gtgagagctt 23700
gctcaatcca gcacgcgttt ggacgcggcg taggacgagg tcgtcgacgc agagtgatcg 23760

ggcccggacg tgacgctgat ggtagcgccg caggctctgc tggtagcgcg cggctctgag 23820
 ggccgcgcgt cgccttcgct cttccaagta gtcgaggtca tctctgcgaa gctgatcttg 23880
 atcagcctcg cagtacatgg tggcccgagg agacctcagg gtgagctcgg atgggagaac 23940
 cgcttccgcg ccgtagacga ggaagaaagg cgtttccccg gttgctcggc ttggtgtagt 24000
 tcggtttgcc cagagcaccg ctggcaactc ctcgatccat gaatcgccgt gcttcttgag 24060
 tatgttgaag gtcttggttt taaggccttt gaggatttct gaattggcgc gctccacttg 24120
 gccattgctt ctgggggtggg caggtgaggc gaagcagagc ttgatgcca tgtcttcgca 24180
 gtagtcgccc aagagttcac tagtgaattg ggtgccatta tccgtaataa tacggttagg 24240
 cactccaaac cgggccgtga tgcccttaat gaatttaagt gcggagtgc tctgatctt 24300
 gacgaccgga taagcctcgg gccacttagt gaacttgtcg atcgcgacat acagatactc 24360
 aaaccgccc ggggcccgcc taaacggtcc caggatatcg agccccaga cagcaaatgg 24420
 ccacgaaagt ggtatggtct gcagggcctg ggccggctga tggatttgct tggcgtggaa 24480
 ttgacacgct ctacatcgcc ggaccaggtc gaccgcatca ttgagagctg tcggccaata 24540
 gaaaccctgg cgaaaagctt taccaacca ggtgcgcgag gcggagtggg ctccgcattc 24600
 gccttcatgg atatcggcaa gaagcacaac gccttgttcc cgaggaatgc acttcaggag 24660
 gattccatta gccgcgcgcc gatagagggt cccttctacc agcacgtagc gtttggagat 24720
 gcgatggacg cgttcactcc cttcgcggtc ctcgggtaaa gtcttatctg tgaggatatgc 24780
 ttggatctcg gcaatccaag caatcaatct aaggagctg ggagcgctcc cctcgggtcc 24840
 cgaggcctgg acttcaacgg gcctcggggg ccggtcaggc gcgtccgtct cccctaaggg 24900
 gtcgggtcgc gccgacggct gggcaagcct ttcttcaaag gcgcccgggtg gggctctgggc 24960
 tcgctgggac gcgagccgtg agagttcgtc ggcaatcatg ttatcccgtc tgggcacatg 25020
 ccgaagctca atcccgtcaa aatggcgctc catacgccgt acttggcgca cgtaggcgtc 25080
 catctgcggg tcagagcacc ggtactcctt acagacttgg ttaacgacca gctgggagtc 25140
 gcctaacacc aggaggcggc ggatccccag tccagctgcc actctgagtc cggcaaggag 25200
 tccctcgtac tctgccatat tgttggtcgc tcgaaagtcg aggcggacca agtatctgag 25260
 gacgtctccg ctcggagagg tcaacgtgac cccgcaccg gcgccctgaa gagacaggga 25320
 gccgtcgaac tgcattacc agtgggcggt gtgaggcagc tgcgaggggt ccgtgctggc 25380
 ctcggggatt gagacgggct cgggagccgg ggtccactct gccacaaaat cggcgagagc 25440
 ctggctcttg atagcgtggc gtggttcaaa gtgcaaatcg aactcagaaa gttcgattgc 25500

ccatttcacc acccgicctg tacctgtctcg attatgcaag atttgaccga ggggtaaga 25560
 cgtaaccaca gtgaccgat ggcctggaa ataatggcgc agtttcctcg aggccatcag 25620
 aatagcgtaa agcatcttct gggcctgagg gtatcgggtt ttggcgctcc ggagggcctc 25680
 actaacaag tagacgggcc gctgcacctt tcggtggggc cgatcctctt cgctaggggc 25740
 cgcatccctg gggcactctt cgtccaagca gcctcgcggg gcgcacttgt cttctgtgct 25800
 gatgacctcg gggtcggagg ataacagggg cggccttccc acagtggctt tggggccgctc 25860
 ctgggggtca ggggctcctg gcgtcgtcgg acaagcgggc aaaggccaa ctccggtcgt 25920
 caggggcctt aggcctccgt tcggctcggg ggcctcttct ccctgctctt tcccgggtcg 25980
 agtcagcaca gggttagcct cggggtcaaa gggcgatagg tgcggccttc ccacagtggc 26040
 ctgagggcct tcctgggggt cgggggctcc tagcaccgtc tgacaagcgg gcagagggcc 26100
 aactccggtc gtcgggggcc tcgggccacc gttcggctcg ggggcctctc ctccctgctc 26160
 tctcccgggc caagtcggca cagggtgggg aagcgcgaaa tgagaattgt cctcatcgcg 26220
 ctccacaacc aatgccgcac taactacttg cggggtcgcc gctaagtaga gtagcaaggg 26280
 ctctgtctggc tccggggcga ccagaactgg gggagagctt agatacgctt tcaactgggt 26340
 gagggcattt tcagcttctt tcgtccaggt aaacggctcg gagcgtttga gaagcttaaa 26400
 taagggtaac gccttctctc ccagcctcga tatgaaccga cttagggcgg ccatgcaacc 26460
 ggtgacgtat tgcacatccc taagtttgct gggggggcgc atccgctcta tagcccgtat 26520
 cttctcgggg ttggcctcaa tgccccgggc agagaccaag aacccgagaa gcttgccgc 26580
 aggtacaccg aacacacact tatcgggggt taattttatg cgggcggagc ggagactctc 26640
 aaaagtttc gctagatcta tgagtaacgt ttcctggttg gcgctcttta caaccaagtc 26700
 atcgacataa gcttcaatat tacgtcctaa ttggctaccc aaagaaattc gagtagtacg 26760
 ttgaaaagta ggacctgcat tctttaacc gaagggcatt gtcgtataac aataggttcc 26820
 tatgggggta atgaacgcag tttttctc atctcccta gccatgcga tctgatggta 26880
 accagagtat gcatctagaa aacacaaaag gtcgcacccc gcagtggagt cgacaatctg 26940
 atctatgcga ggcagggggt aaggatcctt aggacatgcc ttgttaaggc cggtgtagtc 27000
 gatgcacatc cgaagcttgc cgttcgcctt gggaacgacc accgggttcg ctagccactc 27060
 ggcgggggtg acgctgcat catatttttc ggcgatggtg ggccggaacc ttgggggcca 27120
 acggacattc cgaagactcg ccacaaaggc tctacagccg acaccaccaa ccgggggcac 27180
 ggagggctga ttcccgcgtc cgtgttgagg tgacactctg gacgaggaag cgccctccgt 27240

tgcgtgggca gcacttcggt cattacgccg gcgctcgatg ctggtgcggg cgtccggccc 27300
 cccacgcaga tctttctggg tcgaaggagt cgacgaagga gtggcggccg aatggcgaac 27360
 agcggctgcc gctcgtcgtg ccctccgtct tgacgacgcg gagccggtgg tagcagcacc 27420
 agaggccttg gtggcggagg accgccacc agcatctagg cgctgccgta ccgtcatgac 27480
 taatttgccc acgtcgtcca gccatcgttg ggctggagac tccgggtcag ggacgacagg 27540
 cgggtgacgt aagagcgcgc ccgcagcttg gagcgcgccc tggggcgtgc tgccgtcgcc 27600
 gtagacgagg aggcgacgct ccccatctcg ccgttcttct ccatcgcccg cgatcggtga 27660
 agtcgcggat ctttcgaccc tctcgagcgc ctcccccgcc ttaggacttt ggctggagg 27720
 gagcgggtga gtacgagctc gacggcgttg gttcggctcc ccgtcgtcgc cactcacact 27780
 cggagagagg tcgtgcgcct ttgcttgctc ggccatcagg ctgaacagga aaagcttggc 27840
 gcacacggaa gactacgaga gctcagaaaa acacacactg agtcccctac ctggcgcgcc 27900
 agatgacgga gcgtggggct cctcaccggg agaccgcga gggccccctt tgccggttcg 27960
 gccggggact cagggtgaaa ttctaagtc tctgtatgtg gaaggttcgc gaccgtcgaa 28020
 agagcataag acacgggcga tgtatacagg ttcgggcccgc tgagaagcgt aataccctac 28080
 tcctgtgttt tggggggatc tgtgtatgaa ggagctacaa agtatgagcc agcctctccc 28140
 ttgttctggg ttccgaatct ggaaaagtcc agtccagtcc cccctctaa gtgggcaagg 28200
 tcctcctttt atatcttaag gggataccac atgcaccatc tccctccttt ctgtggggac 28260
 ttaccctacc ttttcataaa tggacggaga tttgtatagt tgccgtccga atgaccttct 28320
 gataggacgg ccataccta cctccacttc cgccgaaagc aggtgcgacg tgggattatg 28380
 gctgtctgct gacgacatga ccagtgtcag actggtcaca aattgctcat tcctgtccac 28440
 cacgcgtcag tttagcaatc tacatgttgg cccttcttca cacaacatct tgcctgtaat 28500
 ggtaggatg aagcctggca tatactaac caggactaac gtgccatctc taggaggtaa 28560
 cacgctagct ccagctgggg acgagcgccct agaagccctc gtcctgacgg gatggggcga 28620
 ggctgctgc agatcgccctg tcgccaccta acccgcgatc tgaccggtct gtgactggtc 28680
 acagaccgga taaacgagt cactgcactt cgttacatgc ggctgacac gctcagccaa 28740
 accgcaataa atgtgggttag gtgagccccg ctgtgctcac ctaaccata cacgcggagc 28800
 aaaaaccac gaggggtcgg ggcgccctcg ccctcggggc cgaggcgggt gcggtccgac 28860
 cccctcgggg ggactaagag gagggcgaac acatcacct cgggcccgcac gtccccgag 28920
 ggtgccaggc cacgtgggcg attgtgtctg cctcaaact ctagtcatga tactcctgat 28980

cccatgtcat cgacaaggcc atccgaatgt attaaggagt aaaagttaca agaaaaaaca 29040
 ccacaatgca ccaaggtgca tgaccacaca ccatacacta cccccaagca caaaccactg 29100
 aggggtgaagc ctagcaccaa acgacgcgcca ctaagtgtga ccaaacgccg ctaggcctac 29160
 ggcagcaaca catagatgag acttcgaaaa cgatgccacc aaggtggtca cgacatgtag 29220
 gatgctgcca tcgtccatct aaaaagatgt ggttttcacc cagagaaact catcaagaag 29280
 gggagaggggt aacccttgac agcgcccca ggaggttacg acgcccgaag gcgtagccgc 29340
 tgccggtccg gtgaaccacc ggactaggct tccgcctagg accctatagc cttgatcgca 29400
 gatcaccgtc caccactcag aaccaccaca cagacaaaag gtagcacgta gcttccaccg 29460
 caccgcaccg acgccccttc gtcggccgac tccatcgaac caccatccct gagagctggc 29520
 ccaggacccc tccgttcac caccgcgagg ccgccttgcc agttttggcc aaaggagaac 29580
 ccgggactgg gtgacattgc ttcggcagcc tgagcttccc ccgctggcga gctgctgtct 29640
 caatccaacc tagaaactcc ccgcaaaaaga aggggatgag ctctaggaag ggcgaggggtg 29700
 ccgaccggca acgaggaaga caaccatcg actccagctc cttttgact accatctggg 29760
 cctgcgcaa tgccggatac gctgtcgctc cggctccggc gccaccacc tgcacccct 29820
 ttgcctggtc tccgcgcccc tccgtggtgc gtcgcgccc ccagctggcc gctaaggga 29880
 ccacgacggc cgcccggtta ccgaggcctg gccgcgccat gggacagctc gcgctggcac 29940
 cagcgagcca cggccgtcgc gctgttgccg gcgccagcga gcacaaccgc cagctccaag 30000
 ggccgagcat gccactgagc cgccgccgct gccgccggg ccggtgcac gtcaccggcg 30060
 cacacgaccg cacgccgcca cgctccgcct ccgcgcccga ggcagcccca tgccattgcc 30120
 gcgcacctcg ccgcccgtt gccgagccgc caccgcgcac cttgctgagc cgccaccgcc 30180
 gtccctagcc gcctcgtgcc gccgccacgc cagatccagg cgcgggatgg ccgatccgg 30240
 ccttgggggc gccggatccg ccgcctcccc acaccgccac ggcgtcacca cctccgaccg 30300
 cagtgagggc ttcgtcgttt gcccatacct catcgcgtcg aggaggaaga cgccaagaaa 30360
 aaagggcctc gccgctgcct tccttgctcg ctgccggctt cgccgccggc gagctccggc 30420
 ggcggcgagg tgggggagaa gaagtgggga gtgggcagct agggtttttt cgcccccaa 30480
 gccgccgtg cgagagcgac ggtggggggg gggggacttt ccaacctctt ccagtgttct 30540
 agttctccac gttatgtaac tcaatttggt taaccataga aagtaagaaa cctaccagcg 30600
 tgtaaagctc tctttcattc cttttcttct tcctggtttt gcttccatca catgtcaagt 30660
 gaagggttct taactacat tactctaca catctaattt ttttctcaga tctttcgag 30720

gtatatattg atgctacatt ttatgatctt aagataatct ccttcacatt accctctgct 30780
 gaaacttttag cttgaaccgt catcttcacc acaatttgag cccaatttgc acagagcaca 30840
 acgagcaata gcttgcctt acgttcatta tttagcatga actactacta actaccaag 30900
 aatcaatata ccggtttaat aacgccattt tatcacgtta atatatgttt cattcaacac 30960
 accggttttg gcacagttgc aaacttgcaa taaattcttt cctacttctc catcccataa 31020
 tataacaaat tggatgtct cgtctggtac taagttgcta tattatgaga tggagggagc 31080
 acttcttttc ttccaaaata taagaatata gtattggatt agatattatc tagattcacg 31140
 aattcgatta ggttgtctag atttatagtt gtatgtaatg tataattcgg taataggtta 31200
 ttacctctcg ggatggaggg agtagttttg actttttttt ttcttataaa tcgctttgat 31260
 ttttatatta gtcaaatttt atcgagttaa actaagttaa tagaaaaaaa ttagcaacat 31320
 ttaagcacca cactagtctc attaaattta gcatggaata tattttgata atatatttgt 31380
 tctgtgttaa aaatgctgct atatttttct ataaacgtag tcaaatttaa ataagttaga 31440
 ctaaaaaaaaa tcaaacgac ttataatatg aaatggagga agtagtagac tataacaaat 31500
 ttaaaccgtg ctttgatttt agagcatcac taatatgita gcaataatct atccctaaaa 31560
 tttatttttt ttctaaact gaaaatagga agtggaata ctctccatc taagagagag 31620
 cctaaattca ataaaaaact aaaaaactaa aggtggatcc ctctattaaa ctaccgcaa 31680
 aaatttatgt ttttttctc ttccacgcgc gcagaacaga tatctcgatc aagttagcat 31740
 gtaaaatttt taaagagata cttatacga ctcttccgt atttccaaaa gcaaaccgat 31800
 ttaaaatctg actcaaataa agatctatat atccaattta catgacacat gtttcgccga 31860
 , atttttatat taataataat taatatTTTT aaaattaaat tattagcaat ttgtttggag 31920
 gatttatcaa aacaggatgg acgttgttta taacagcgtc tagacctaga cgcgcttgca 31980
 aactgcggcc acccttttat cacacaaatt ttgacaatt tgacactttc caaaaattaa 32040
 ttttataaat taaccgtgac caaaacttat ttaaaaataa tctttttgtt gagcgcaaaa 32100
 tcgtatactt cagcgccaaa tagcacggcg ccgacctccc cttccccctc ccctctatcc 32160
 tccactgctg ccgcccacct ctccgtatca gctgcgtcgc gttggtttcc gccggcgctg 32220
 ctgctgctgc accagtccgc tagggcgggc gggcatggcg cgccgcgccg cttcccgcgt 32280
 ccgcgccggc gctgttggcg cccttcgctc ggagggctcg acccaagggc gagggggccg 32340
 cacggggggc agtggcgccg aggacgcacg ccacgtgttc gacgaattgc tccggcgtgg 32400
 caggggcgcc tcgatctacg gcttgaactg cgccctcgcc gacgtcgcgc gtcacagccc 32460

cgcgccgcc gtgtcccgct acaaccgcat ggcccagacc ggccgacg aggtactcc 32520
 caacttgtgc acctacggca ttctcatcgg ttctgtgtgc tgcgcgggcc gcttggacct 32580
 cggtttcgcg gccttgggca atgtcattaa gaagggattt agagtggacg ccatcgctt 32640
 cactcctctg ctcaagggcc tctgtgtga caagaggacg agcgacgcaa tggacatagt 32700
 gctccgcaga atgaccacg ttggctgcat accaaatgtc ttctcctaca atattcttct 32760
 caaggggctg tgtgatgaga acagaagcca agaagctctc gagctgtctc aaatgatgcc 32820
 tgatgatgga ggtgactgcc cacctgatgt ggtgtcgtat accactgtca tcaatggctt 32880
 cttcaaggag ggggatctgg acaaagctta cggtagatac catgaaatgc tggaccgggg 32940
 gattttacca aatgttgta cctacagctc tattattgct gcgttatgca aggctcaagc 33000
 tatggacaaa gccatggagg tacttaccag catggttaag aatgggtgtca tgcctaattg 33060
 caggacgtat aatagtatcg tgcattggta ttgctcttca gggcagccga aaggaggctat 33120
 tggatttctc aaaaagatgc acagtgtggt gtgcgaacca gatgttgta cttataactc 33180
 gctcatggat tatctttgca agaacggaag atgcacggaa gctagaaaga tgttcgattc 33240
 tatgaccaag aggggcctaa agcctgaaat tactacctat ggtaccctgc ttcaggggta 33300
 tgctacaaa ggagcccttg ttgagatgca tggctcttct gatttgatgg tacgaaacgg 33360
 tatccaccct aatcattatg ttttcagcat tctaatatgt gcatacgcta aacaaggga 33420
 agtagatcag gcaatgcttg tgttcagcaa aatgaggcag caaggattga atccggatac 33480
 agtgacctat ggaacagtta taggcatact ttgcaagtca ggcagagtag aagatgctat 33540
 gcgttatatt gagcagatga tcgatgaaag actaagccct ggcaacattg tttataactc 33600
 cctaattcat agtctctgta tctttgacaa atgggacaag gctaaagagt taattcttga 33660
 aatgttggat cgaggcatct gtctggacac tattttcttt aattcaataa ttgacagtca 33720
 ttgcaaagaa gggagggtta tagaatctga aaaactcttt gacctgatgg tacgtattgg 33780
 tgtgaagccc gatattatta cgtacagtac tctcatcgat ggatattgct tggcaggtaa 33840
 gatggatgaa gcaacgaagt tacttgccag catggtctca gttggaatga aacctgattg 33900
 tgttacatat aatactttga ttaatggcta ctgtaaaatt agcaggatgg aagatgcgtt 33960
 agttcttttt agggagatgg agagcagtgg tgttagtcct gatattatta cgtataatat 34020
 aattctgcaa ggtttatttc aaaccagaag aactgctgct gcaaaagaac tctatgtcgg 34080
 gattaccgaa agtggaacgc agcttgaact tagcacatac aacataatcc ttcattgggct 34140
 ttgcaaaaac aatctcactg acgaggcact tcgaatgttt cagaacctat gtttgacgga 34200

tttacagctg gagactagga cttttaacat tatgattggt gcattgctta aagttggcag 34260
aaatgatgaa gccaaaggatt tgtttgcagc tctctcggct aacggtttag tgccagatgt 34320
taggacctac agtttaatgg cagaaaaatct tatagagcag gggttgctag aagaattgga 34380
tgatctatct ctttcaatgg aggagaatgg ctgtactgcc aactcccgca tgctaaattc 34440
cattgttagg aaactgttac agaggggtga tataaccagg gctggcactt acctgttcat 34500
gattgatgag aagcacttct ccctcgaagc atccactgct tccttgtttt tagatctttt 34560
gtctggggga aaatatcaag aatatcatag gtttctccct gaaaaatata agtcctttat 34620
agaatctttg agctgctgaa gccttttgca gctttgaaat tctgtgttgg agttcttttc 34680
tcctacagtt gtattagagg agggatcttc tctttatgtg taaatagcga ggtatgtatg 34740
tcacctctcc gaattatctt tactctgggt cctagacggg aaacaagcaa ttatgttctg 34800
cctttgatgc cagaaaaaac acaaaagttt gtcgttatct ctactaacgg atcataaagg 34860
aatttgtaac tggagtttca aacttaattt gtctaggcag tagttttggc attagatcca 34920
acattgtgta ggattcattt gtgtgtatca atctataggg tttcattaaa tttcgttaat 34980
gtgtactgtt taggtgttga atagtttgac ttgtttttta actgaacaaa agatactgaa 35040
atcggtccat tcaacaacaa catgttccgt taatgaaatt attgtacgtt accttttgtt 35100
ttcttactca caagtgtcct cttttcttat atcctataga ttggtacaac aaattattga 35160
ttcaattttg gttttgaaca ttgatgatcc tccctgcact attggtgcag ctgctcttct 35220
attcattttg tgaagtgatg tgagtacctc tcaatcccat ccttatgctt ctgtgcatgc 35280
ttcattccaa ttttttacgc atatcgattg ttttctttta tataacagtc cataaagata 35340
atcacatcat gacaaagtta tttatttcta cagtatagtt atataagtat tcaccagttt 35400
tccatgaata ttttggcatg tgattacaaa gaagattatt tgagaaaatc catgctttta 35460
tttcatcttt ttgtttgaag ttgaacttta atttatggtg taaatttcag ttattattgc 35520
tagcagctcg tactctttta tgggtataact tcacttgtgc ttattctcca atatctccct 35580
tcttgttggt caggttcaag aaaatcattt gttggattca gaatctggtg tccattttct 35640
tcttaaatta ttaaactctc cagtgaatct tgttgattcc aaagcaccat cgatagggtc 35700
caaacttctt ggaatcagta aagttcaaatt gcttaatgga tcaaataagg attctgactg 35760
catttcagag gaaatccttt caaaagtga agagattctc ttaagctgtc aagtgatcaa 35820
gtcgtctgac aaagatgaca agaaaacaac aaggccagaa ctgtgtccaa agtggcttgc 35880
tttgttgaca atggaaaatg catgcttgtc tgctgtttca gtagagggtg agttttaatc 35940

aaatttcttg gtcattgattt ccctttatga ccattatatt tatttatatg agccaaataa 36000
gcagttgtca acttgtcata agttacatag cacctatttg caatattcat ggggtggtttg 36060
cttagccctt ttcttcacct gcttttgatt gatgacttcc atctgtgttg cagaattgaa 36120
ttggagtagt ggactgcact agaagcacct atggccattg tcatactagg aaggttttcc 36180
cttatcaaatt atttgattgt tacagagact tctgacacag tgtccagagt tggaggaaat 36240
tttaaagaga cattaaggga gatgggaggt cttgatagta tttttgacgt tatgggtggat 36300
tttcattcaa cattggaggt gagatctcgc taacatcgca tattttacat ttcctttgtt 36360
caactctaatt ggattgtgca ggcttgttcc ttttcgccat tttagcttta atgtgcttga 36420
agccacatga aagtaatgct tgtccagata catagccaaa ggttgttata ttttggggca 36480
tggaataatgc ttgaggtagt aactattttc atcaggacat ggaaaattgg ctgcaacaca 36540
aattatgttg ttttatgttg caaaaatagt tttttaatac tttttattc tgcattgtgt 36600
gttagtatct tacagttcct ctgatgatta tatccccac gataataaca cttgaaacga 36660
taataacact tgacatatct acaccaagtg aacattattc atttggatgt tacttttcca 36720
gctatacttg ctgttcttgc atgtgtaagc aagtttggag taaattgcgc attaatataa 36780
atgcttgggtg ttcctatctg tgtactttt attccccaac taataatgca atcatattac 36840
gctgataaac tgaataaata aattaacaat atacttctgg tggcaaacct tgtgtatcag 36900
aatctcataa aggatacatc cacttcagct ttggaccgaa atgaaggaa atctttgcaa 36960
agtgtgtctc tcctcttgaa atgtttgaaa atattggaaa atgcatatt tctaagcgat 37020
gataacaagg taatgtcct tatatgttct gtttcagttt agtaccatt tccttcttct 37080
gtactatctt ctctctgat ttgttctgt caaatgtgc aaacagtgcg actttgtatg 37140
tctgttaac aattttctt tcttctgaa aaagcaatat gaactcttac attcattttg 37200
cttcttgacg acccatttgc ttaatatgag tagaaaattg aaccggaaac gtccttgc 37260
ttcttttgtt ggtgtcatta tcaatactat tgagttatta tcaggtattt ttcttaataa 37320
tacaatgtgt tcgctaacac aataaaatgt tttaaacatc cagtatgtta aagttgcagt 37380
ctgacgccta ttttgttttg ctgcagctct ttcaatactt cagaattctt ctgttgtttc 37440
cagctctaca tatccgaaat cgtctaaagt ctctcaacag agttactctg gtaataacaa 37500
acaccaattt tgtttgatca gttgatctcg ttggcttttc tatgcactgt ctcaatatag 37560
tttggtcgcc attcaagtct cactacagat gttgaacttg gcctgacacc aaatatttat 37620
aaaatgctac ctgatatttt taatatttca tgtttcctga cccagattat cttgttggtt 37680

cctcgtataa gtttaattag tgacattctt gaagctttgt tatgcagcag atgtcatggg 37740
gggaacttca tttaatgatg gaaagagcaa gaactcgaaa aaaaaaaact tttgtcgaac 37800
cagacacgtc attgttgctt atcttcaaaa tcagaagttt ctcatattac tatatcttct 37860
ggtagtgatg ctggctctgtc acagaaggca ttcaattgtt ctccatttat atcaagcaat 37920
ggggcatcaa gtggttcatt aggcgagagg cacagcaatg gtagtggttt gaagttgaat 37980
ataaaaaagg atcgtggcaa tgcaaatcca attagaggct caactggatg gatttcaata 38040
agagcgcaca gttctgatgg gaactccaga gaaatggcaa aaagactccg tctatcttaa 38100
aatgtaatca ccgacagtgg tgggtggtgat gacccttttg catttgaccg ccgctcggc 38160
gtcgccacca cgtaatcgcc cacgtcgtg ccccgctgc cacgtcgtc accggcacg 38220
gtaatcacac gcatctcgag gccgcccgtc gctgatattt tctcatccgg ttgatttgtg 38280
atthtggcgt ttttgcagt gtagtgccg gggcgaccg tggccgaggc gtggagtgc 38340
atccgcatca ggggtgtatc gccgctgc tccgccctgg tccgcaggct ttggcggcga 38400
gctggcggcg gagggagact gtggtgagat cggatttcgc cgctggtggt gtcgctacca 38460
tgggggattc gccgcaggcg ctctcaggtt tgcagcctcc tccactctct tccctttttt 38520
atthtthttht ctcgcaaaat gtgttgatg gttcgtctcg ctgggcaggc ctcatagcca 38580
ttaatgtagt ttgctggaac atttacattt ggaacgttgt tggcaattgc ttgacaaaat 38640
gtggaattgt ggaggggaga aaaatcattt gaacctgcag tgacaaaatt gccatctcta 38700
atthtthttht tgaagggtgt gaaatcaaac ataactattg ccagcgcac attcttgta 38760
accaccatga tatattgtt gttataacag ttagctccac accaaccttg aagggtgcaa 38820
tagaatgttt agtataaatt gaggagaaca ggcagttgtt aagactttct aaagaacttg 38880
tagcagctaa tactagctat tgtgcatttg tgtttcatgg aatttgagca gcaatggata 38940
tttcttacta agatgtatga tgcaaaacaa aaaactatgt ctatacagtt tacatgtaat 39000
gtgcggatgc aaataaaatc atgtacatgg acaaactcat gggattcata ccgaattcca 39060
gaattgcatt tcttatgttg ttacttttgt tgttgatttg gttaccagac atcgatgtga 39120
tttcaagggt cagaggggtt tgcttctacg cgggtggctgc agttgcagca atctttttgt 39180
ttgtcgccat ggttgtgtt catccacttg tgctcctatt tgaccgatac cggaggagag 39240
ttcaggaaaa aaatttgaaa ataccattt tttgaaaaag atttacgttt atatacacta 39300
gtatgaagaa tttgcgaaaa tataactaat ccgcagatcg gttatgcggg agcgcaacaa 39360
aagtatggcg tggcggcgcg gagtggacgg ccgaggcggt cgcgcggaat ggggctgcgg 39420

gaccgagcca gtctcgcttg ccggtaacgc ggaaccggtg cgctcccgca gcgccagtgt 39480
 gcggaaccgc ggcgccaaca tttttttact gcatggcact gtgtttaata ctgtttgaca 39540
 ctgtttctgg tactgtttta cacagttccc gggtcagttc cgcacaatgg aggcgcgcca 39600
 ccgaccatga acaatgtgtg aacagtgtg cacagggtta aaacagtgtg taaactgcgc 39660
 tgcacagtgc tggagtcgct ggccactgcg gttccgcgtt ttggaaccgc gggaccgtcg 39720
 cgattccgcg ttttgagct gccggacat gacggttccg cgcaggatcg tcggtcccgt 39780
 attttgaatc tgcggaaccg tcgtgtccc gcgtttccgt ttcgcgggat gcgtatatatt 39840
 ttataaaacc tctccatgca tgtatataaa cataaattat tgaaaaata agtatatttg 39900
 caaatttttt tcgagagctc agcactacat tgcaaagatt tgggcaactc tgacaatttc 39960
 catgttctac aagcttgacg tcgagggaat ggagaacctg ccaccgaata gtagccctgc 40020
 tatctatgtt gcgaaccatc agagtttttt ggatatctat acccttctaa ctctaggaag 40080
 gtgtttcaag tttataagca agacaagtat atttatgttc cgaattattt gatgggcaat 40140
 gtatctctta ggagtaattc ctttgcggcg tatggacagc aggagccagc tggtaggtgct 40200
 gtagtctcat ccctgctttc ttaagtagac atatatgcaa ttacagaatt tggtaaacaa 40260
 acaagatttt atgaatcata tatgattttg gggaaaacac caaactctct ttggtggctg 40320
 ccttgaacat agttctattc acacagttat agcaccttct ttaaaatgaa gaactttgtt 40380
 gcatacacat atggccaaac cacataatga attttgttta tttctatctt tgaatgttag 40440
 caccttattt tcatgcatat catgctaatt tgcttgccca cgttgagtgg gaattttttt 40500
 ccatgtttta taatttatat atgttctaga cttctagtcc acaatttatc tacttcatgt 40560
 tcctgagcct ctagtatggc tggtagcaga ctaggtgctg agtgctgtcc atttttgcag 40620
 actgaagaga ggagaaatac aggactgtcc gttgttagtc agatttgtaa aaatagactc 40680
 tgatgtagtt tattttagcc cctattttat atttaacaat acaaatatat aacgtatcct 40740
 aagaacttat cgtaatttag gagaagttgc tcgtttcatt aaattaaact gtgaagtaaa 40800
 aatgtgtgct cgagtctgtc aatgcaatcc tgtgttcttg tttgaagata tgggtgtaggg 40860
 caggctagga tcgaacactg aatggtaaga ctgcttctgc cttcatttgt gcacttggtg 40920
 ctgccacgcc gattaagcag tagaaciaag taattttgtc gtgcacaaat gagttatatt 40980
 tcattgaaaa tcgaagtga aatgaaccaa aagatagaag aaaaggggaa acttggtaat 41040
 tatatactcc acaaatttat tggtaagatt tgatattaga cgctcgatta cttggcttaa 41100
 gttaaggata tcaaatttgg ggaagcacca aaggaattat tgtgaaggag ttgtgggtgc 41160

ataacgttat ctactaggtt caaatcctag tgactatgaa tattaatgag taaggtaagg 41220
 gatttattgt taatttttagt ttctttaaga ttgtgtccgg gtacaccatt cggtaagtgt 41280
 aataatgttt tgtattggat tcacttgtgt tacgtgcatg tgatttacct ttccatttgt 41340
 ttctgcgttc tgggtatgaa ttigacgaga ttccatggtc agctcaacat atcagttact 41400
 gcgtgtcaag cgatcttata tggatatgcgc acaagcgatt gtatacggat atgacagtat 41460
 aacgtgtgat attgatacga tgttcctttc ctttataaag gaacaaagac ttttttaaaa 41520
 aaaagaaggg gtattactaa aaaccaaaat gtcaaaaaca aaatatcagt gcacatggca 41580
 agtgtgcacg agcaatagct tgcccttacg ttcattatth agcatgtact actactaact 41640
 acgcaaaaat caattcaccg attattaaac tgtaacatc atttttagcac gttaacatat 41700
 gtttcattca acacaccggt tttggcacat ttacaaactt gcaaagttgc aatactccct 41760
 tcgttacata gcataagaga ttttaggtga atgtgacaca tctatccaaa ttcattatac 41820
 tagaatgtat caccgcctcc acgccgggag ggagagcgcc gccggtggag aaagggggag 41880
 ggagtggtcg aggggaacca gtagggtgcc ctccccgtcg ccgcctcccc gtggccgcgc 41940
 cggcgagaca ggaggaagag ggggatatgg agcggcgccg ccggtgaggg cgcgcgcgcg 42000
 ggggggagcg gcgacgccgg tgaggaaggg aaggggagtg gtggctttga gagagatagg 42060
 ggggaggaaa aatgatttta gagttagggt ttgggctgct gagttttat atagatcggg 42120
 atcaatcagg accgtccatc agatcggaca actacggctt ctcccgctt gggccgggtg 42180
 ccactcctag gttgccaca ctattgggcc acatgtacgc tccgcgtgaa ataagttcac 42240
 tttaggtcct ttaagttgcc tctgaattgt tcccaggccg gccgcactat tgggccaccc 42300
 cataggccat gtgtacgctc cgcacagaat aatttcgctt tagctccctt aatttgtccc 42360
 ctcaaactcc taaaaccagt gcaaatcttt aatttttagt tcacccattg caactcacgg 42420
 gcatatttgc tagtgacata taatatgaaa cgaaggatgt agcagactat agaatttaaa 42480
 ctgtgctttc attttagagc atcactaact gttatttaga tttttattta aataaatgct 42540
 gaaatgatgt ttttattatg aaaattagca ataaagctcc caaaatttca aaaaaaatt 42600
 aaaagagatt tattaatcat ggtaattta attaaaaatt aaatctaacc atatcatatt 42660
 atttcacggt ccgtgatgag gaaatggcag ctgctatcac ttacgggtggg agagaagggg 42720
 cattgtttat ttttataact atctcttata actcccatga aactataaaa taaatataat 42780
 cattatcata acattagttt tttttccatt gcaacgcaag ggtaattttt cagtacaata 42840
 aaaaaataa aagtgggcca ttctgaacgg aaatttctgg tttttttcc caagagcgcc 42900

gcacacaact gcgcaagaga tcgatcgcg tcaccctgct cgtcgccgat ctctacacc 42960
 atccctgcc a tctccttccc ctccactggc tgctgctgca cctgtcagct agggcgggca 43020
 tggcgcgccg cgccgcttcc cgcgctgctg gcgcccttcg ctcgaggggc tcgatccaag 43080
 ggcgaggggg ccgcgcgggg ggcagtggcg gtggcgcgga ggacgcacgc cacgtgttcg 43140
 acgaattgct ccgtcgtggc ataccagatg tcttctccta caatattctt ctcaacgggc 43200
 tgtgtgatga gaacagaagc caagaagctc tcgagttact gcacataatg gctgatgatg 43260
 gaggtgactg cccacctgat gtggtgtcgt acagcaccgt catcaatggc ttcttcaagg 43320
 aggggggatct ggacaaaatg cttgaccaga ggatttcgcc aaatgttgtg acctacaact 43380
 ctattattgc tgcgctatgc aaggctcaaa ctgtggacaa ggccatggag gtacttacca 43440
 ccatggttaa gagtgggtgc atgcctgatt gcatgacata taatagtatt gtgcatgggt 43500
 tttgctcttc agggcagccg aaagaggcta ttgtatttct caaaaagatg cgcagtgatg 43560
 gtgtcgaacc agatgttgtt acttataact cgctcatgga ttatctttgc aagaacggaa 43620
 gatgcacgga agcaagaaag atttttgatt ctatgaccaa gaggggccta aagcctgata 43680
 ttactaccta tggtagcctg cttcaggggt atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc 43740
 atggtctctt ggatttgatg gtacgaaacg gtatccacce taatcattat gttttcagca 43800
 ttctagtatg tgcatacgct aaacaagaga aagtagaaga ggcaatgctt gtattcagca 43860
 aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg cagtgcaccta tggaacagtt atagatgtac 43920
 tttgcaagtc aggtagagta gaagatgcta tgctttattt tgagcagatg atcgatgaag 43980
 gactaagacc tgacagcatt gtttataact ccctaattca tagtctctgt atctttgaca 44040
 aatgggagaa ggctgaagag ttatttcttg aaatgttgga tcgaggcatc tgtcttagca 44100
 ctattttctt taattcaata attgacagtc attgcaaaga agggagggtt atagaatctg 44160
 gaaaactctt tgacttgatg gtacgaattg gtgtgaagcc cgatatcatt acccttggca 44220
 ggtaagatgg atgaagcaat gaagttactt tctggcatgg tctcagttgg gttgaaacct 44280
 aatactgtta cttatagcac ttgattaat ggctactgca aaattagtag gatggaagac 44340
 gcgttagttc tttttaagga gatggagagc agtgggtgta gtcctgatat tattacgtat 44400
 aacataattc tgcaaggttt atttcaaacc agaagaactg ctgctgcaaa agaactctat 44460
 gtcaggatta ccgaaagtgg aatgcagatt gaactttgtt agatttaatt ggataattaa 44520
 tccatttaaa tcaattaaat caaataaatt ccaaggctca ttatgctagg aattcatgtg 44580
 aattcattct tctatgggat atcaatggga tgaagagttt tgagaattaa tccatttgat 44640

taaggaattg gtaacttata tcaattaatc ctaattgatg gatggttgat ggttgtgtag 44700
tggaggatgg ttcatggcta gttgatgaca attagttgct ctattcctct tcctattcca 44760
ttggtaactt acatcaatta ctcttaattg attgttgggt gatggttgtg tagtggagga 44820
tggttcatgg ctagttgatg acaattagtt gctccattcc tcttcctatt ccatgactct 44880
tactcttcat cttccattcc tcttataaaa tgagaatgga tttgatctcc cgcgagaaga 44940
agaagacaca ctttcatcca ttttcaaaag ctgttgctgc tacggtaatc ccatcccgac 45000
gagtgtgtgc acacgcgttg ggagagtagg cctccgaaac cacgcgttg gcgcgactac 45060
gcacagacgg gcgggcatc aggttttttg ggagcgcaag gcgcgactac tctgtttcg 45120
tcaacatcta cttcatcttc accaacaatgt cgaacactgg agacaaggag aaggagactc 45180
ccgtcaacac caacggaggc aatactgcct caaactccag cggaggacca ttcttggggt 45240
ataaccttat tacattatit caattagaag ttttactgtt aatgttcatc gcaatgtcaa 45300
cattgtgtca ttatgtgatt gttgatgctt attcaacgtt aagcatgctc atgttgatta 45360
cattcaccac tatcactgga tcaaactcta ttgtaaata catgtttatt atcttgttat 45420
tttggattaa aatatgccga attatgacca aatttccaac aaacttagca catacaacat 45480
aatccttcat ggactttgca aaaacaaact cactgatgat gcacttcgaa tgtttcagaa 45540
cctatgtttg atggatttga agcttgaggc taggactttc aacattatga ttgatgcatt 45600
gcttaaagtt ggcagaaatg atgaagccaa ggatttgtt gttgctttct cgtctaacgg 45660
tttagtgccg aattattgga cgtacagatt gatggctgaa aatattatag gacaggggtt 45720
gctagaagaa ttggatcaac tctttctttc aatggaggac aatggctgta ctgttgactc 45780
tgcatgcta aatttcattg ttagggaact gttgcagaga ggtgagataa ccagggttg 45840
cacttacctt tccatgattg atgagaagca cttttccctc gaagcatcca ctgcttcctt 45900
gtttatagat cttttgtctg ggggaaaata tcaagaatat catatatttc tccctgaaaa 45960
atacaagtcc tttatagaat ctttgagctg ctgaagcatt ttgcagcttt gaaattctgt 46020
gttgaattc ttttctcta cagtccgatt agaggaggga tcttctctgt atgtgtaaat 46080
agcgaggat gtatgtcacc tctccgaatt attttgactg tggttcctgg actgtaaaca 46140
agctattatc ttctgggtgt gatgccagaa aaaacacaaa agtttgcgt tatctctact 46200
aacggatcat aaagggttt gtaactggag tttcaaaact aaggtatcta ggcagtaggt 46260
atatattgat cctacatctt atgatcttaa gatgatatcc ttctcattat cctctgctga 46320
aactttagct tgaaccgtca tctacaccac aatttgagcc ccttagcaca gagcacaacg 46380

agcaatagct tgcccttacg ttcattattht agcatgcact actactaact acccaataat 46440
 caatacatcg gttattaaac tgtttgtaca gtttaataat gtcattttat cacgttaaca 46500
 tatgtttcat tcaacaccac accggttttg gcacagttgc aaacttgcaa taacattttt 46560
 actacttctc cgccccataa tataacaatc tcgttccata ctatattgct atattacggg 46620
 acggatgaag tacttctttc cttccaaaat ataagaatct agtcctagat tagatattat 46680
 ttggattcac gaatttgatt aggctatcta gattttagt cgtagtaat gtctaattcg 46740
 gtaataggtht attacctctt tggatggagg gagtagtttt tatttcgtac tccctctgtt 46800
 tcatattata agttgttttg acttttttct tagtcaaatt ttattgagtht tgactaaatt 46860
 tatagaaaaa aaattagcaa catttaagca ccacattagt ttcattaaat gtagcatgga 46920
 atatatthtt ataatatgtht tgttttttta ttaaaatgct actatatthtt tctataaatg 46980
 tagccaaatt taaagaagtht tgattacgaa aaaaaatcaa aatgacatat aatatgaaac 47040
 tgaggatgta gcagactata gcaaatttaa actatgcttht tattttagag catcacaaa 47100
 agagatagcc taaatcttat cttactaat taaaatattc ataattttcc tttcgtcaca 47160
 ttaaattttc gtccgtaaat ccgattgaaa tccaactaga caatccaaaa aatagagaaa 47220
 aagaacagaa aaaataataa aaagcacaca aatcttatct caatcccgcg ggaagctgcc 47280
 gatgccgccc aatccgctcg agcgccgccc ccgcccgtca cggggaacga tgtcgtgct 47340
 atcgcacgtg gtatgggagg gcgcccgcgc cgctgcttgg gagataggat atggagagag 47400
 aaggaaatgt gagggagggt taggtttttc cccattcgta tcttcagcga cacggaggcg 47460
 atccaagctg tccatcagat cagacggctc agaacgcctc catcttcagg ccgcgcatgc 47520
 ttgatgggcc gagggaaggc cggagggtcg aacaaacgta gtcagaggag gagttggagg 47580
 aggtaaagta gaatttattht gcgggctgag atagtaaatht gactgaaaat ggcccataga 47640
 gaaattggga atthttattht aataaatht gaaaaggtgt ttatattatc aaaattagaa 47700
 attaagctcc gaaaatttht aaaaatattc aaagagcatt attaatcatg attaatthta 47760
 taaaaattht atccaacat atcatattat ttcacggcgc gcagtaggaa aatgcgcagc 47820
 tgttgcgtc tacggtggga gagaaggac attgtttatt ttcagaacta tctttataa 47880
 ctcccatgga actthtaaat aaatataatc attattatag cattagthtt tttctgtctt 47940
 ttttttccc aagagcgccc cgcagaagag atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg 48000
 ccggccgac tctcattctc tccacgcct gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg 48060
 ccatctctc cttccctcc cctctatct ccaactggtgc cgccacctc tccgtataag 48120

acaaactgcg ttgcggcggtt ggtttccgcc ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc 48180
 gggcatggcg cgccgcgccc cttcccgcgc tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat 48240
 ccaagggcga ggaggccgcg cggggggcag tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga 48300
 cgaattgctc cggcgtggca ggggcgccctc gatctacggc ttgaaccgcg ccctcgccga 48360
 cgtcgcgcgt cacagccccg cggccgccgt gtcccgctac aaccgcatgg cccgagctgg 48420
 gcgcgacgag gtaactcccc acttgtgcac ctacggcatt ctcacgggtt gctgctgccg 48480
 cgcgggccgc ttggacctc gtttcgcggc cttgggcaat gtcattaaga agggatttag 48540
 agtggaaagg atcaccttca ctctctgct caagggccctc tgtgccgaca agaggacgag 48600
 cgacgcaatg gacatagtgc tccgcagaat gaccgagctc ggttgcatac caaatgtctt 48660
 ctctacaat aatcttctca acgggctgtg tgatgagaac agaagccaag aagctctcga 48720
 gttgctgcac atgatggctg atgatcgagg aggaggtagc ccacctgatg tgggtgtcga 48780
 taccactgtc atcaatggct tcttcaaaga gggggattca gacaaagctt acagtacata 48840
 ccatgaaatg ctggaccggg ggattttacc tgatgttgtg acctacagct ctattattgc 48900
 tgcgttatgc aagggtcaag ctatggacaa gccatggagg tacttaccac gatggttaag 48960
 aatggtgtca tgcctgattg catgacatat aatagttatt tcttgaaatg ttggatcgag 49020
 gcatttgtct ggacactatt ttctttaatt caataattga cagtcattgc aaagaaggga 49080
 gggttataga atctgaaaaa ctctttgacc tgatggtagc tattggtgtg aagcctgata 49140
 tcattacata cagtacactc atcgatggat attgcttggc aggtaaagatg gatgaagcaa 49200
 tgaagttact ttctggcatg gtctcagttg ggttgaaacc taatactgtt acttatagca 49260
 ctttgattaa tggctactgc aaaattagta ggatggaaga cgcgttagtt ctttttaagg 49320
 agatggagag cagtgggtgtt agtcctgata ttattacgta taacataatt ctgcaagggt 49380
 tatttcaaac cagaagaact gctgctgcaa aagaactcta tgtcaggatt accgaaagtg 49440
 gaacgcagat tgaacttagc acatacaaca taatccttca tggactttgc aaaaacaaac 49500
 tcactgatga tgcacttcag atgtttcaga acctatgttt gatggatttg aagcttgagg 49560
 ctaggacttt caacattatg attgatgcat tgcttaaagt tggcagaaat gatgaagcca 49620
 aggatttggt tgttgctttc tcgtctaacg gtttagtgcc gaattattgg acgtacaggt 49680
 tgatggctga aaatattata ggacaggggt tgctagaaga attggatcaa ctctttcttt 49740
 caatggagga caatggctgt actgttgact ctggcatgct aaatttcatt gttagggaac 49800
 tgttgcagag aggtgagata accagggctg gcacttacct ttccatgatt gatgagaagc 49860

acttttcct cgaagcatcc actgcttcc tgtttataga tcttttgtct gggggaaaat 49920
 atcaagaata ttataggttt ctccctgaaa aatacaagtc ctttatagaa tctttgagct 49980
 gctgaagcat tttgcagctt tgaattctg tgttgaatt cttttctcct acagtcctat 50040
 tagaggagg atcttctctg tatgtgtaa tagcgaggta tgtatgccac ctctccgaat 50100
 tatttttact gtggttccta gactgtaaac aagcaattat gttatgctgt tgatgccaga 50160
 aaaaacataa aagtttgtc ttatctctac taacggatca taaagggatt tgtgactgga 50220
 gtttcaaact taatgtgtct aggcagtaat ttgacatta gatccaaaac aatttatagg 50280
 gtttcattaa attcatcta tgtgtactgt ttaggtgttg aatagtttga cttgtttttt 50340
 aactgaacaa aagatatgtc tgaagctttg ttctttacca aatgcagtac tgatcatcac 50400
 aatatatttt ttatggaaca agattggatt gtatagaatg gtttccgac tgattatctt 50460
 atctcaacgt attattatgc acatgtacta atcatgaaat atctgatgga atgatgtttc 50520
 tatttacctg tgtgaggcag caaggagtga gatggataac accacatact cctctatcc 50580
 cagaatataa gaagttttag agttggacac gattattaag aaagtaggta gaagtgaata 50640
 gtggagggtt gtgattgcat gagtagtgga gtaggtggg aaaagtgaat ggtggagggt 50700
 tgtgattggt tgggaagaga atgttggttag agaagttgtt atattttggg gactacatta 50760
 ttattctaga acaatactgt tgtgctcaag aagcgtcca aagatgtttc acaacctgtg 50820
 ctcatgggt tttgagctta atcctgggac attcagtatc atgatctgtc tcattcttaa 50880
 acatggaata aaggatgaca gcatgatttc tttgtctcta taatcttttg gctaccaca 50940
 gataatagct gtaaattctat actactttta aaggagtagt ggtggtggtg agtggtgaat 51000
 ctgccaccac cccaccacca actctcaaaa ttctgacatg tgggactact gtcaatccct 51060
 tctccaagac atgtgggac actgtcaatc cttctccaa accaattgta tgatagaaca 51120
 gtggaaatca cggacagacc atggagctct caaccataat catccttgcg agttaataac 51180
 aaatggagcg taaacttggc aagcaaaaa ctcaaattaa ttctaaaatt aagctctagg 51240
 attcaaaaata gatttcctct ctgcattgtg ctgttatgat ttttaattcc gtaacaacgc 51300
 aaatgcattt tgctagtctt ataaagaagg gttaatgcaa atattctgat taaatgattg 51360
 tatctatgaa gtttgaatgc tagtggaagc tcctttgacc atgttttgtt gtgcgagcat 51420
 ttaagagagt gaagagaatg cttcttttgt gctgttctgg tatggaagga tccacagata 51480
 aaattcaggt tctactgctt ctctgcttgt aattttcatg aagctgcagt gaataccttg 51540
 ttgaccactt gatctgttgc tttgaaggag aatatagtag tggccaaggt tggtagcgg 51600

gatggtggca tgtgatcccc cagatcttca gtgaccaga gaggagggga cggcgcgtgg 51660
 tgagctacaa ggcataactca gtggagggca agatcaaggc ctcccgtccg taggggactc 51720
 cgctgcatca aggccaactg ctccgaactg atcaatttct ggtacggatc acttctcctt 51780
 tccttttttt tttcacctta agcactctct tgattcttcg ctgctacctc ccttaatttc 51840
 tttcaatata ttgtggcact tgatcatggc ggagaccac cttccagtgt gaatggattt 51900
 tgtcaaagaa ctaaatttat tccattagct tattttctga ttacatggaa gacattcttt 51960
 tctggaataa atacagaact aaatcctgtt tcctgaataa aagttgttag tgtgtggcat 52020
 ggtgcatttc cgcgcttcta aattttataa aacctgttca ttcaattga acctgcatcc 52080
 aatccaatat tttagggtgca gacagggtgct tgcggtcagg ttaaagaagt tggcaaaaat 52140
 gcttctgaag aaagggtta tgttgtttca tctcaggagg taatatgcag atgattattc 52200
 caattggcat tgccttgcca tttttatcac gagtctttac aattttatat cctcctacat 52260
 attctttcca gattccagat gatccagtgt ctccaacaat tgaggcgctt attttgctcc 52320
 atagtaaagc aagtacactt gctgagaacc accagttgac aacacggctt gttgtacat 52380
 caaacaaggt tggttgtatt cttggggaag gtggaaaggt aattactgaa atgagaagac 52440
 ggactggggc tgaaatccga gtctactcaa aagcagataa acctaagtac ctgtcttttg 52500
 atgaggagct tgtgcaggta atttatttgg ccatacctac accagagatc catatattac 52560
 tttataact gcagttttta cttgttaaca tttcattgtg cttttacatt tgtccaagc 52620
 tttcaggttg ctgggcttcc agctattgaa agaggagccc tgacagagat tgcttcgagg 52680
 ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata atccgacacc ttttgcccct 52740
 gttgatggtc ctctgttga tatcttgctt aacaaggaat tcatgctata tggacgatct 52800
 gctaatagtc ccccatatgg agggcctgct aatgatccac catatggaag acctgccatt 52860
 gatccaccat atggaagacc aatatccaca atatggaaga cctgccaatg atccaccata 52920
 tagaagacct gtcaatgata catcatattg agggttggac aatgatgggc ctcgatgatca 52980
 ggcccgggtc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg ggccccgat tcccagggcc 53040
 cccacctatc tgtgcaacga gtagtagcga tcttccagcg cgcaacgtga ggcgatgttt 53100
 ctccgtgatt tcgccggcct gcaactgcga gatcgcgagt ataacgatca gccgatgat 53160
 ctcatctgcc gactgccaatg ctgatgccac acgcaagcgc agcatatcag ccttatcttg 53220
 gttgatcggc atgctggacg agcacatctg ttgtcgcac aactgctgac tgctatatat 53280
 gtgctgggtc tgaatcgatc gattgtcgtc gcggaagtga agaacaacca cggcactgct 53340

gcctgctggg ctctagccgc catcagtaag tacgctatac tgcctatcta gatctagatc 53400
gagattacat agtggaatta tctgtttata acaaaattac aaggtatcaa ttgataattt 53460
aaggttataa ccgtacaaac ttcagtgatt tgctggtttc acattgggta gatttgtttc 53520
aactaatttg gtacttctgt agccttgtaa tttacgaatc tagtattaat attttcttaa 53580
gtattagcct gttccitgat attatgctgt tgagaaagta tgcaatagat aacaaaaaca 53640
agtaggtgtg ttgaggatgc tcaagagtaa tacagccact tcaataattc tgatattatc 53700
aggacatcat caataattct gcgcctacaa atcttcaaag aaaattttaa tataatgcgt 53760
atgatttttt aaatacgaat attgattgct atttaaagat atttatatta tatggtaatt 53820
attatttgaa ggtttataat aaaggcctcc gtttttagtt tcacgctggg ccttcagaat 53880
ctcaggaccg gccctgctca tgatc 53905

<210> 29

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 29

atcaggagcc ttcaaattgg gaac 24

<210> 30

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 30

ctcgcaaatt gcttaatttt gacc 24

<210> 31

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 31

tgaaggagtt atgggtgcgt gacg 24

<210> 32

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 32

ttgccgagca cacttgccat gtgc 24

<210> 33

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 33

gcgacgcaat ggacatagtg ctcc 24

<210> 34

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 34

ttacctgccca agcaatatcc atcg 24

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 35

aaggcatact cagtggaggg caag 24

<210> 36

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 36

ttaacctgac cgcaagcacc tgtc 24

<210> 37

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 37

tgatggact atgtggggtc agtc 24

<210> 38

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 38

agtgaagtg gagagagtag ggag 24

<210> 39

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 39

ccctccaaca cataaatggt tgag 24

<210> 40

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 40

tttctgccag gaaactgtta gatg 24

<210> 41

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 41

gcgatcttat acgcatacta tgcg 24

<210> 42

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 42

aaagtctttg ttccttcacc aagg 24

<210> 43

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 43

gaggatttat caaaacagga tggacg 26

<210> 44
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 44
tgggcggcag cagtggagga taga 24

<210> 45
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 45
aagaaggag gggtatagaa tctg 24

<210> 46
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 46
atatcaggac taacaccact gctc 24

<210> 47

<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 47
acgagtagta gcgatcttcc agcg 24

<210> 48
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 48
cagcgtgaaa ctaaaaacgg aggc 24

<210> 49
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial sequence
<220>
<223> Oligonucleotide primer for amplification
<400> 49
atccacatc atcataatcc gacc 24

<210> 50
<211> 25
<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 50

agcttctccc ttggatacgg tggcg 25

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 51

atttgttggt tagttgcggc tgag 24

<210> 52

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 52

gcccaaactc aaaaggagag aacc 24

<210> 53

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 53

cctcaagtct cccctaaagc cact 24

<210> 54

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 54

gctctactgc tgataaacgc tgag 24

<210> 55

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 55

tggatggact atgtggggtc agtc 24

<210> 56

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 56

agtggaagtg gagagagtag ggag 24

<210> 57

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 57

tacgacgcca ttctactcca ttgc 24

<210> 58

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 58

catttctctat tgggcgttgc tctg 24

<210> 59

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 59

acctgtaggt atggcacctt caacac 26

<210> 60

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 60

ccaaggaacg aagttcaaat gtatgg 26

<210> 61

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 61

tgatgtgttt gggcatccct ttcg 24

<210> 62

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 62

gagatagggg acgacagaca cgac 24

<210> 63

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 63

tcctatggct gtttagaaac tgcaca 26

<210> 64

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 64

caagttcaaa cataactggc gttg 24

<210> 65

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 65

cactgtcctg taagtgtgct gtgc 24

<210> 66

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 66

caagcgtgtg ataaaatgtg acgc 24

<210> 67

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 67

tgcctactgc cattactatg tgac 24

<210> 68

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 68

acatactacc gtaaattggtc tctg 24

<210> 69

<211> 4820

<212> DNA

<213> rice

<400> 69

atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg cgggccgacg tctcattctc tccacgccct 60
gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg ccatctcctc cttcccctcc cctctatcct 120
ccactggtgc cgcccacctc tccgtataag acaaactgcg ttgcggcggtt ggtttccgcc 180
ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc gggcatggcg cgccgcgccc cttcccgcgc 240
tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat ccaagggcga ggaggccgcg cggggggcag 300
tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga cgaattgctc cgccgtggca ggggcgcctc 360
gatctacggc ttgaaccgcg ccctcgccga cgtcgcgcgt gacagccccg cggccgcccgt 420
gtcccgtac aaccgcatgg cccgagccgg cgccgacgag gtaactcccg acttgtgcac 480
ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccg cgcgggccgc ttggacctcg gtttcgcggc 540
cttgggcaat gtcattaaga agggatttag agtggacgcc atcgccctca ctctctgct 600
caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag cgacgcaatg gacatagtgc tccgcagaat 660
gaccgagctc ggctgcatac caaatgtctt ctctacaat attcttctca aggggctgtg 720
tgatgagaac agaagccaag aagctctcga gctgctgcac atgatggctg atgatcgagg 780
aggaggtagc ccacctgatg tgggtgtcgt taccactgtc atcaatggct tcttcaaaga 840
gggggattca gacaaagctt acagtacata ccatgaaatg ctggaccggg ggattttacc 900
tgatgttgtg acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag ctatggacaa 960
agccatggag gtacttaaca ccatgggttaa gaatggtgtc atgcctgatt gcatgacata 1020
taatagtatt ctgcatggat attgctcttc agggcagccg aaagaggcta ttggatttct 1080
caaaaagatg cgcagtgatg gtgtcgaacc agatgttggt acttatagct tgctcatgga 1140
ttatctttgc aagaacggaa gatgcatgga agctagaaag attttcgatt ctatgaccaa 1200
gaggggccta aagcctgaaa ttactacctc tgggtaccctg cttcaggggt atgctaccaa 1260
aggagccctt gttgagatgc atggtctctt ggatttgatg gtacgaaacg gtatccaccc 1320
tgatcattat gttttcagca ttctaataatg tgcatacgct aaacaaggga aagtagatca 1380
ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg cagtgcgta 1440
tggagcagtt ataggcatac tttgcaagtc aggcagagta gaagatgcta tgctttatct 1500
tgagcagatg atcgatgaag gactaagccc tggcaacatt gtttataact ccctaattca 1560
tggtttgtgc acctgtaaca aatgggagag ggctgaagag ttaattcttg aaatgttgga 1620
tcgaggcatc tgtctgaaca ctattttctt taattcaata attgacagtc attgcaaaga 1680
agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgagctgatg gtacgtattg gtgtgaagcc 1740

caatgtcatt acctacaata ctcttatcaa tggatattgc ttggcaggta agatggatga 1800
 agcaatgaag ttactttctg gcatggcttc agttgggttg aaacctataa ctgttactta 1860
 tagcactttg attaatggct actgcaaaat tagtaggatg gaagacgcgt tagttctttt 1920
 taaggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataaca taattctgca 1980
 aggtttatit caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaagaa ctctatgtta ggattaccga 2040
 aagtggaacg cagattgaac ttagcacata caacataatc cttcatggac ttgcaaaaaa 2100
 caaactcact gatgatgcac ttcagatgtt tcagaacctt tgtttgatgg atttgaagct 2160
 tgaggctagg actttcaaca ttatgattga tgcattgctt aaagttggca gaaatgatga 2220
 agccaaggat ttgtttgttg ctttctcgtc taacgggtta gtgccgaatt attggacgta 2280
 caggttgatg gctgaaaata ttataggaca ggggttgcta gaagaattgg atcaactctt 2340
 tctttcaatg gaggacaatg gctgtactgt tgactctggc atgctaaatt tcattgttag 2400
 ggaactgttg cagagagggt agataaccag ggctggcact tacctttcca tgattgatga 2460
 gaagcacttt tccctcgaag catccactgc ttccttgitt atagatcttt tgtctggggg 2520
 aaaatatcaa gaatattata ggtttctccc tgaaaaatac aagtccttta tagaatcttt 2580
 gagctgctga agcattttgc agctttgaaa ttctgtgttg gaattctttt ctctacagt 2640
 cctattagag gagggatctt ctctgtatgt gtaaatacg agtttgaatg ctagtggaag 2700
 ctctttgac catgttttgt tgtgcgagca tttaagagag tgaagagaat gcttcttttg 2760
 tgctgttctg gtatggaagg atccacagat aaaattcagt agtggccaag gttggtgacg 2820
 gtgatggttg catgtgatcc ccagatctt cagtgaacca gagaggaggg gacggcgcgt 2880
 ggtgagctac aaggcatact cagtggaggg caagatcaag gcctcccgtc ctagggggac 2940
 tccgctgcat caaggccaac tgctccgaac tgatcaattt ctggtgcaga caggtgcttg 3000
 cggtcagggt aaagaagttg gcaaaaatgc ttctgaagaa aggttaattg ttgtttcatc 3060
 tcaggagatt ccagatgatc cagtgtctcc aacaattgag gcgcttattt tgctccatag 3120
 taaagtaagt acacttgctg agaaccacca gttgacaaca cggcttggtg taccatcaaa 3180
 caaagttggt tgtattcttg gggaagggtg aaaggtaatt actgaaatga gaagacggac 3240
 tggggctgaa atccgagtct actcaaaagc agataaacct aagtacctgt cttttgatga 3300
 ggagcttggt caggttgctg ggcttccagc tattgaaaga ggagccctga cagagattgc 3360
 ttcgaggctt tgaactagga cactcagaga tggaagttct tccaataatc cgacaccttt 3420
 tgccccgtgt gatggctctc ctgttgatat cttgcctaac aaggaattca tgctatatgg 3480

acgatctgct aatagtcgcc catatggagg gcctgcta atggaagacc 3540
 tgccattgat ccacatatg gaagaccaat atccacaata tggaagacct gccaatgac 3600
 caccatatag aagacctgtc aatgatacat catattgagg gttgaacaat gatgggcctc 3660
 gtgatcaggc ccggtcctga ggggggtcga atggggcgat cgctccgggc ccccgattc 3720
 ccaggggccc cacctatctg tgcaacgagt agtagcgatc ttccagcgcg caacgtgagg 3780
 cgatgtttct ccgtgatttc gccggcctgc aactgcgaga tcgagagtat aacgatcagc 3840
 cgatcgatct catctgccga ctgccatgct gatgccacac gcaagcgag catatcagcc 3900
 ttatcttggg tgatcgcat gctggacgag cacatctgtt gtcgcatcaa ctgctgactg 3960
 ctatatatgt gctgggtctg aatcgatcga ttgtcgtcac ggaagtgaag aacaaccacg 4020
 gcactgctgc ctgctgggct ctagccgcca tcagctgcgg agctgatcca tggacgtgag 4080
 gattaccgaa gactgtcagg tcctactggg tatccagggt gctctgtcga attgtggatt 4140
 ccaaatagtt aactggagtc tgtcattggg gttgggtggg tcaatctagc tgagatccgt 4200
 ctggtatagc gtaagagaaa catcatgcac tatcccagc cataaccatg cccaatggc 4260
 caccaatagt tttcctcgtg aaaatctccc ctgatccca gatctctggt gcgagagtga 4320
 agttgcacga agcccatcct ggttcttccg agtccattgt ggagatccag ggcatcctcg 4380
 atcaagtga agccgcacag agccttctgc aaggcttcat cggcgcaagc agcaacagca 4440
 ggcaggcgcc ccagtcctct cgcattggcc attattttta gtaagctgga ggacattcgc 4500
 aacagggggg tcagtgggtc ctgcaaagct gagtttggtc ttcagttcaa ctgcagaaaa 4560
 ttgcagatcg gttgccgtag ttgctagaac ggtacatagt tgccacctaa ctgtagcgag 4620
 tggcataact tattgtgtgt tactgccc aa tgtgtctct ccttgtgttc atggattcag 4680
 acttgtgatt gtagtatttc tggatcagac tggagtaaaa gaaaaaaaaa aaggaagaca 4740
 tgggtttaac agtaagctca aaacgttgac agtagtaaaa taaaagggtt ttgttactt 4800
 taaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4820

<210> 70

<211> 4821

<212> DNA

<213> rice

<400> 70

cgatcgcgat ctccctgccc cgacgtcgcc ggccgatctc tcattctctc cacgccctgc 60
 tcgtcgccga tctcctacac catccctgcc atctcctcct tcccctcccc tctatcctcc 120
 actggtgccg cccacctctc cgtataagac aaactgcgtt gcggcggttg tttccgccgg 180
 cgctgctgct gcacctgtca gctagggcgg gcatggcgcg ccgcgccgct tcccgcgctg 240
 ttggcgccct tcgctcggac ggctcgatcc aagggcgagg aggccgcgcg gggggcagtg 300
 gcgccgagga cgcacgccac gtgttcgacg aattgctccg ccgtggcagg ggcgccctga 360
 tctacggctt gaaccgcgcc ctccgccgac tcgcgcgtga cagccccgcg gccgccgtgt 420
 cccgctacaa ccgcatggcc cgagccggcg ccgacgaggt aactcccgac ttgtgcacct 480
 acggcattct catcggttgc tgctgccgcg cgggccgctt ggacctcggg ttccgcggcct 540
 tgggcaatgt cattaagaag ggatttagag tggacgccat cgccttcact cctctgctca 600
 agggcctctg tgccgacaag aggacgagcg acgcaatgga catagtgtct cgcagaatga 660
 ccgagctcgg ctgcatacca aatgtcttct cctacaatat tcttctcaag gggctgtgtg 720
 atgagaacag aagccaagaa gctctcgagc tgctgcacat gatggctgat gatcgaggag 780
 gaggtagccc acctgatgtg gtgtcgtata ccaactgtcat caatggcttc ttcaaagagg 840
 gggattcaga caaagcttac agtacatacc atgaaatgct ggaccggggg attttacctg 900
 atgttgtgac ctacaactct attattgctg cgttatgcaa ggctcaagct atggacaaag 960
 ccatggaggt acttaacacc atggttaaga atgggtgtcat gcctgattgc atgacatata 1020
 atagtattct gcatggatat tgctcttcag ggcagccgaa agaggctatt ggatttctca 1080
 aaaagatgcg cagtgatggg gtcgaaccag atgttggttac ttatagcttg ctcatggatt 1140
 atctttgcaa gaacggaaga tgcatggaag ctagaaagat tttcgattct atgaccaaga 1200
 ggggcctaaa gcctgaaatt actacctatg gtaccctgct tcaggggtat gctaccaaag 1260
 gagcccttgt tgagatgcat ggtctcttgg atttgatggg acgaaacggg atccaccctg 1320
 atcattatgt tttcagcatt ctaatatgtg catacgttaa acaagggaaa gtagatcagg 1380
 caatgcttgt gttcagcaaa atgaggcagc aaggattgaa tccgaatgca gtgacgtatg 1440
 gagcagttat aggcatactt tgcaagtcag gcagagtaga agatgctatg ctttatattg 1500
 agcagatgat cgatgaagga ctaagccctg gcaacattgt ttataactcc ctaattcatg 1560
 gtttgtgcac ctgtaacaaa tgggagaggg ctgaagaggt aattcttgaa atgttgatc 1620
 gaggcattct tctgaacact attttcttta attcaataat tgacagtcac tgcaaagaag 1680
 ggagggttat agaattctgaa aaactctttg agctgatggg acgtattggg gtgaagccca 1740

atgtcattac ctacaatact cttatcaatg gatattgctt ggcaggtaag atggatgaag 1800
caatgaagtt actttctggc atgggtctcag ttgggttgaa acctaatact gttacttata 1860
gcactttgat taatggctac tgcaaaatta gtaggatgga agacgcgtta gttcttttta 1920
aggagatgga gagcagtggg gttagtcctg atattattac gtataacata attctgcaag 1980
gtttatttca aaccagaaga actgctgctg caaaagaact ctatgttagg attaccgaaa 2040
gtggaacgca gattgaactt agcacataca acataatcct tcatggactt tgcaaaaaca 2100
aactcactga tgatgcactt cagatgtttc agaacctatg tttgatggat ttgaagcttg 2160
aggctaggac tttcaacatt atgattgatg cattgcttaa agttggcaga aatgatgaag 2220
ccaaggattt gtttgttgct ttctcgtcta acggtttagt gccgaattat tggacgtaca 2280
ggttgatggc tgaaaatatt ataggacagg ggttgctaga agaattggat caactctttc 2340
tttcaatgga ggacaatggc tgtactgttg actctggcat gctaaatttc attgttaggg 2400
aactgttgca gagaggtgag ataaccaggg ctggcactta cctttccatg attgatgaga 2460
agcacttttc cctcgaagca tccactgctt ccttgtttat agatcttttg tctgggggaa 2520
aatatcaaga atattatagg tttctccctg aaaaatacaa gtcctttata gaatctttga 2580
gctgctgaag cattttgcag ctttgaaatt ctgtgttgga attcttttct cctacagtcc 2640
tattagagga gggatcttct ctgtatgtgt aaatagcgag tttgaatgct agtggaaagct 2700
cctttgacca tgttttgttg tgcgagcatt taagagagtg aagagaatgc ttctttggtg 2760
ctgttctggt atggaaggat ccacagataa aattcagtag tggccaaggt tggtgacggt 2820
gatggtggca tgtgatcccc cagatcttca gtgaccaga gaggagggga cggcgcgtgg 2880
tgagctacaa ggcatactca gtggagggca agatcaaggc ctcccgtccg taggggactc 2940
cgctgcatca aggccaactg ctccgaactg atcaatttct ggtgcagaca ggtgcttgcg 3000
gtcagggttaa agaagtggc aaaaatgctt ctgaagaaag gttaattgtt gtttcatctc 3060
aggagattcc agatgatcca gtgtctccaa caattgaggc gcttattttg ctccatagta 3120
aagtaagtac acttgctgag aaccaccagt tgacaacacg gcttggttgta ccatcaaaca 3180
aagttggttg tattcttggg gaaggtggaa aggttaattac tgaaatgaga agacggactg 3240
gggctgaaat ccgagtctac tcaaaagcag ataaacctaa gtacctgtct tttgatgagg 3300
agcttgctga ggttgctggg cttccagcta ttgaaagagg agccctgaca gagattgctt 3360
cgaggctttg aactaggaca ctgagagatg gaagttcttc caataatccg acacctttg 3420
cccctgttga tggtcctcct gttgatatct tgcctaacaa ggaattcatg ctatatggac 3480

gatctgctaa tagtccccca tatggagggc ctgctaata tccaccatat ggaagacctg 3540
ccattgatcc accatatgga agaccaatat ccacaatatg gaagacctgc caatgatcca 3600
ccatatagaa gacctgtcaa tgatacatca tattgagggt tgaacaatga tgggcctcgt 3660
gatcaggccc ggtcctgagg ggggtcgaat ggggcgatcg ctccgggccc cccgattccc 3720
agggccccca cctatctgtg caacgagtag tagcgatctt ccagcgcgca acgtgaggcg 3780
atgtttctcc gtgatttcgc cggcctgcaa ctgcgagatc gcgagtataa cgatcagccg 3840
atcgatctca tctgccgact gccatgctga tgccacacgc aagcgcagca tatcagcctt 3900
atcttggttg atcggcatgc tggacgagca catctgttgt cgcatcaact gctgactgct 3960
atataatgtg tggtgctgaa tcgatcgatt gtcgtcacgg aagtgaagaa caaccacggc 4020
actgctgcct gctgggctct agccgccatc agctgcggag ctgatccatg gacgtgagga 4080
ttaccgaaga ctgtcaggtc tcaactgggtg tccagggtggc tctgtcgaat tgtggattcc 4140
aaatagttaa ctggagtctg tcattgggtg tggtgggtgc aatctagctg agatccgtct 4200
ggtatagcgt aagagaaaca tcatgacta tccccagtca taaccatgcc ccaatggcca 4260
ccaatagttt tcctcgtgaa aatctcccct tgatcccaga tctctgggtg gagagtgaag 4320
ttgcacgaag cccatcctgg ttcttccgag tccattgtgg agatccaggg cattccggat 4380
caagtgaag ccgcacagag ccttctgcaa ggcttcatcg gcgcaagcag caacagcagg 4440
caggcgcccc agtcctctcg catggcccat tatttttagt aagctggagg acattcgcaa 4500
caggggggtc agtggtcact gcaaagctga gtttgttctt cagttcaact gcagaaaatt 4560
gcagatcggt tgccgtagtt gctagaacgg tacatagttg ccacctaact gtagcgagtg 4620
gcataactta ttgtgtgta ctgcccattg ttgtctctcc ttgtgttcat ggattcagac 4680
ttgtgattgt agtatttctg gatcagactg gagtaaaaga aaaaaaaaaa ggaagacatg 4740
ggtttaacag taagctcaaa acgttgacag tagtaaaata aaaggggttt gttcacttta 4800
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 4821

<210> 71

<211> 5005

<212> DNA

<213> rice

<400> 71

gagatcgatc gcgatctccc tgccccgacg tcgccggccg atctctcatt ctctccacgc 60
 cctgctcgtc gccgatctcc tacaccatcc ctgccatctc ctcttcccc tccccctat 120
 cctccactgg tgccgcccac ctctccgtat aagacaaact gcgttgccgc gttggtttcc 180
 gccggcgctg ctgctgcacc tgtcagctag ggccggcatg gcgcgccgcg ccgcttcccg 240
 cgctgttggc gcccttcgct cggacggctc gatccaaggg cgaggaggcc gcgcgggggg 300
 cagtggcgcc gaggacgcac gccacgtgtt cgacgaattg ctccgccgtg gcaggggcgc 360
 ctcgatctac ggcttgaacc gcgccctcgc cgacgtcgcg cgtgacagcc ccgcggccgc 420
 cgtgtccccg tacaaccgca tggccccgagc cggcgccgac gaggttaactc ccgacttgtg 480
 cacctacggc attctcatcg gttgtctgtg ccgcgcgggc cgcttggacc tcggtttcgc 540
 ggcccttggc aatgtcatta agaagggatt tagagtggac gccatgcct tcactcctct 600
 gctcaagggc ctctgtgccg acaagaggac gagcgacgca atggacatag tgctccgcag 660
 aatgaccgag ctccggtgca taccaaattg cttctctac aatattcttc tcaaggggct 720
 gtgtgatgag aacagaagcc aagaagctct cgagctgctg cacatgatgg ctgatgatcg 780
 aggaggaggt agcccacctg atgtggtgtc gtataccact gtcacatg gcttcttcaa 840
 agagggggat tcagacaaag cttacagtac ataccatgaa atgctggacc gggggatttt 900
 acctgatgtt gtgacctaca actctattat tgctgcgtta tgcaaggctc aagctatgga 960
 caaagccatg gaggtactta acaccatggg taagaatggg gtcatgcctg attgcatgac 1020
 atataatagt attctgcatg gatattgctc ttcagggcag ccgaaagagg ctattggatt 1080
 tctcaaaaag atgcgcagtg atggtgtcga accagatgtt gttacttata gcttgctcat 1140
 ggattatctt tgcaagaacg gaagatgcat ggaagctaga aagattttcg attctatgac 1200
 caagaggggc ctaaagcctg aaattactac ctatggtacc ctgcttcagg ggtatgctac 1260
 caaaggagcc cttgttgaga tgcattggtc cttggatttg atggtacgaa acggtatcca 1320
 ccctgatcat tatgttttca gcattctaata atgtgcatac gctaaacaag ggaaagtaga 1380
 tcaggcaatg cttgtgttca gcaaaatgag gcagcaagga ttgaatccga atgcagtac 1440
 gtatggagca gttataggca tactttgcaa gtcaggcaga gtagaagatg ctatgcttta 1500
 ttttgagcag atgatcgatg aaggactaag ccctggcaac attgtttata actccctaata 1560
 tcatggtttg tgcacctgta acaaatggga gagggctgaa gagttaattc ttgaaatgtt 1620
 ggatcgaggc atctgtctga acactatatt ctttaattca ataattgaca gtcattgcaa 1680
 agaagggagg gttatagaat ctgaaaaact ctttgagctg atggtacgta ttggtgtgaa 1740

gcccaatgtc attacctaca atactcttat caatggatat tgcttggcag gtaagatgga 1800
 tgaagcaatg aagttacttt ctggcatggt ctgagttggg ttgaaaccta atactgttac 1860
 ttatagcact ttgattaatg gctactgcaa aattagtagg atggaagacg cgtagtttct 1920
 ttttaaggag atggagagca gtggtgtag tcctgatatt attacgtata acataattct 1980
 gcaagggtta tttcaaacca gaagaactgc tgctgcaaaa gaactctatg ttaggattac 2040
 cgaaagtgga acgcagattg aacttagcac atacaacata atccttcacg gactttgcaa 2100
 aaacaaactc actgatgatg cacttcagat gtttcagaac ctatgtttga tggatttgaa 2160
 gcttgaggct aggactttca acattatgat tgatgcattg cttaaagttg gcagaaatga 2220
 tgaagccaag gatttgtttg ttgctttctc gtctaacggt ttagtgccga attattggac 2280
 gtacagggtg atggctgaaa atattatagg acaggggttg ctagaagaat tggatcaact 2340
 ctttctttca atggaggaca atggctgtac tgttgactct ggcatgctaa atttcattgt 2400
 tagggaactg ttgcagagag gtgagataac cagggctggc acttaccttt ccatgattga 2460
 tgagaagcac ttttccctcg aagcatccac tgcttccttg tttatagatc ttttgtctgg 2520
 gggaaaatat caagaatatt ataggtttct ccctgaaaaa tacaagtcct ttatagaatc 2580
 tttgagctgc tgaagcattt tgcagcttg aaattctgtg ttggaattct tttctcctac 2640
 agtcctatta gaggagggat ctctctgta tgtgtaaata gcgagttga atgctagtgg 2700
 aagctccttt gaccatgttt tgttgtgca gcatttaaga gagtgaagag aatgcttctt 2760
 tgggtgctgtt ctggtatgga aggatccaca gataaaattc aggagaatat agtagtggcc 2820
 aaggttggtg acggtgatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtgac ccagagagga 2880
 ggggacggcg cgtggtgagc tacaaggcat actcagtga gggcaagatc aaggcctccc 2940
 gtccgtaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa tttctggtgc 3000
 agacaggtgc ttgcggtcag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcttctgaa gaaaggttaa 3060
 ttgttgtttc atctcaggag attccagatg atccagtgtc tccaacaatt gaggcgctta 3120
 ttttgctcca tagtaaagta agtacacttg ctgagaacca ccagttgaca acacggcttg 3180
 ttgtaccatc aaacaaagtt ggttgatttc ttggggaagg tggaaaggta attactgaaa 3240
 tgagaagacg gactggggct gaaatccgag tctactcaaa agcagataaa cctaagtacc 3300
 tgtcttttga tgaggagctt gtgcaggttg ctgggcttcc agctattgaa agaggagccc 3360
 tgacagagat tgcttcgagg ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata 3420
 atccgacacc ttttgcccct gttgatggtc ctctgttga tatcttgctt aacaaggaat 3480

tcatgctata tggacgatct gctaatagtc ccccatatgg agggcctgct aatgatccac 3540
 catatggaag acctgccatt gatccacat atggaagacc aatatccaca atatggaaga 3600
 cctgccaatg atccaccata tagaagacct gtcaatgata catcatattg agggttgaac 3660
 aatgatgggc ctcgtgatca ggcccgggtc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg 3720
 ggccccccga ttcccagggc cccacctat ctgtgcaacg agtagtagcg atcttccagc 3780
 gcgcaacgtg aggcgatgtt tctccgtgat ttccgccc tgcaactgcg agatcgcgag 3840
 tataacgatc agccgatcga tctcatctgc cgactgccat gctgatgcca cacgcaagcg 3900
 cagcatatca gccttatctt ggttgatcgg catgctggac gagcacatct gttgtcgcat 3960
 caactgctga ctgctatata tgtctgggtg ctgaatcgat cgattgtcgt cacggaagtg 4020
 aagaacaacc acggcactgc tgcctgctgg gctctagccg ccatcagctg cggagctgat 4080
 ccatggacgt gaggattacc gaagactgtc aggtctcact gggtatccag gtggctctgt 4140
 cgaattgtgg attccaaata gttaactgga gtctgtcatt ggtgttgggtg gtgtcaatct 4200
 agctgagatc cgtctggtat agcgtaagag aaacatcatg cactatcccc agtcataacc 4260
 atgccccaat ggccaccaat agttttcctc gtgaaaatct ccccttgatc ccagatctct 4320
 ggtgcgagag tgaagttgca cgaagcccat cctggttctt ccgagtccat tgtggagatc 4380
 cagggcattc cggatcaagt gaaagccgca cagagccttc tgcaaggctt catcggcgca 4440
 agcagcaaca gcaggcaggc gcccagtc tctcgcatgg cccattatit ttagtaagct 4500
 ggaggacatt cgcaacaggg gggtcagtgg tcaactgcaa gctgagtttg ttcttcagtt 4560
 caactgcaga aaattgcaga tcggttgccg tagttgctag aacggtacat agttgccacc 4620
 taactgtagc gagtggcata acttatitgtg tgttactgcc caatgttgtc tctccttggtg 4680
 ttcatggatt cagacttggt attgtagtat ttctggatca gactggagta aaagaaaaaa 4740
 aaaaaggaag acatggggtt aacagtaagc tcaaaacgtt gacagtagta aaataaaagg 4800
 ggtttgttca ctttatitcc aatatcaacc ttaccaacat ttggcgttga atcatttata 4860
 ccacatcgct tgtgcagctg aatttggggc tgtttaaaag atggtctctt ggattgctaa 4920
 ttgcctcgcg gcaagcgtgg tacctgttac aatataaata taattataac tatttaattt 4980
 cataaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 5005

<210> 72

<211> 4978

<212> DNA

<213> rice

<400> 72

gcgatctccc tgccccgacg tcgccggccg atctctcatt ctctccacgc cctgctcgtc 60
 gccgatctcc tacaccatcc ctgccatctc ctcttcccc tcccctctat cctccactgg 120
 tgccgcccac ctctccgtat aagacaaact gcgttgccgc gttggtttcc gccggcgctg 180
 ctgctgcacc tgtcagctag ggccggcatg gcgcgccgcg ccgcttcccg cgctgttggc 240
 gcccttcgct cggacggctc gatccaaggc cgaggaggcc gcgcgggggg cagtggcgcc 300
 gaggacgcac gccacgtgtt cgacgaattg ctccgccgtg gcagggggcg ctcgatctac 360
 ggcttgaacc gcgccctcgc cgacgtcgcg cgtgacagcc ccgcggccgc cgtgtcccgc 420
 tacaaccgca tggcccgagc cggcgccgac gaggtaactc ccgacttggt cacctacggc 480
 attctcatcg gttgctgctg ccgcgcgggc cgcttggacc tcggtttcgc ggccttgggc 540
 aatgtcatta agaagggtt tagagtggac gccatgcctt tcaactcctt gctcaagggc 600
 ctctgtgccg acaagaggac gagcgacgca atggacatag tgctccgcag aatgaccgag 660
 ctcggtgca taccaaagt cttctctac aatattcttc tcaaggggct gtgtgatgag 720
 aacagaagcc aagaagctct cgagctgctg cacatgatgg ctgatgatc aggaggaggt 780
 agcccacctg atgtggtgtc gtataccact gtcacatg gcttcttcaa agagggggat 840
 tcagacaaag cttacagtac ataccatgaa atgctggacc gggggatatt acctgatgtt 900
 gtgacctaca actctattat tgctgcgtta tgcaaggctc aagctatgga caaagccatg 960
 gaggtactta acaccatggt taagaatggt gtcatgcctg attgcatgac atataatagt 1020
 attctgcatg gatattgctc ttcagggcag ccgaaagagg ctattggatt tctcaaaaag 1080
 atgcgcagtg atggtgtcga accagatgtt gttacttata gcttgctcat ggattatctt 1140
 tgcaagaacg gaagatgcat ggaagctaga aagattttcg attctatgac caagaggggc 1200
 ctaaagcctg aaattactac ctatggtacc ctgcttcagg ggtatgctac caaaggagcc 1260
 cttgttgaga tgcattgctt cttggatttg atggtacgaa acggtatcca ccctgatcat 1320
 tatgttttca gcattctaata atgtgcatac gctaaacaag ggaaagtaga tcaggcaatg 1380
 cttgtgttca gcaaaatgag gcagcaagga ttgaatccga atgcagtac gtatggagca 1440
 gttataggca tactttgcaa gtcaggcaga gtagaagatg ctatgcttta ttttgagcag 1500
 atgatcgatg aaggactaag ccctggcaac attgtttata actccctaata tcatggtttg 1560

tgcacctgta acaaattgga gagggctgaa gagttaattc ttgaaatgtt ggatcgaggc 1620
atctgtctga acactatitt ctttaattca ataattgaca gtcattgcaa agaagggagg 1680
gttatagaat ctgaaaaact ctttgagctg atgggtacgta ttggtgtgaa gcccaatgtc 1740
attacctaca atactcttat caatggatat tgcttggcag gtaagatgga tgaagcaatg 1800
aagttacttt ctggcatggg ctcagttggg ttgaaaccta atactgttac ttatagcact 1860
ttgattaatg gctactgcaa aattagtagg atggaagacg cgtagttct ttttaaggag 1920
atggagagca gtggigttag tcctgatatt attacgtata acataattct gcaaggttta 1980
tttcaaacca gaagaactgc tgctgcaaaa gaactctatg ttaggattac cgaaagtgga 2040
acgcagattg aacttagcac atacaacata atccttcacg gactttgcaa aaacaaactc 2100
actgatgatg cacttcagat gtttcagaac ctatgtttga tggatttgaa gcttgaggct 2160
aggactttca acattatgat tgatgcattg cttaaagttg gcagaaatga tgaagccaag 2220
gatttgtttg ttgctttctc gtctaacggg ttagtgccga attattggac gtacaggttg 2280
atggctgaaa atattatagg acaggggttg ctagaagaat tggatcaact ctttctttca 2340
atggaggaca atggctgtac tgttgactct ggcatgctaa atttcattgt tagggaactg 2400
ttgcagagag gtgagataac cagggctggc acttaccttt ccatgattga tgagaagcac 2460
ttttccctcg aagcatccac tgcttccttg tttatagatc ttttgtctgg gggaaaatat 2520
caagaatatt ataggtttct ccctgaaaaa tacaagtcct ttatagaatc tttgagctgc 2580
tgaagcattt tgcagctttg aaattctgtg ttggaattct tttctcctac agtcctatta 2640
gaggagggat cttctctgta tgtgtaaata gcgagttga atgctagtgg aagctccttt 2700
gaccatgttt tgttgtgca gcatthaaga gagtgaagag aatgcttctt tgggtgtgtt 2760
ctggtatgga aggatccaca gataaaattc aggttctact gcttctctgc ttgtaatttt 2820
catgaagctg cagtgaatac cttgttgacc acttgatctg ttgctttgaa ggagaatata 2880
gtagtggcca aggttggtga cggtgatggg ggcatgtgat ccccgagatc ttcagtgacc 2940
cagagaggag gggacggcgc gtggtgagct acaaggcata ctcagtggag ggcaagatca 3000
aggcctcccg tccgtagggg actccgctgc atcaaggcca actgctccga actgatcaat 3060
ttctggtgca gacaggtgct tgcggtcagg ttaaagaagt tggcaaaaat gcttctgaag 3120
aaaggttaat tgttgtttca tctcaggaga ttccagatga tccagtgtct ccaacaattg 3180
aggcgcttat tttgtccat agtaaagtaa gtacacttgc tgagaaccac cagttgacaa 3240
cacggcttgt tgtaccatca aacaaagttg gttgtattct tggggaaggt ggaaaggtaa 3300

ttactgaaat gagaagacgg actggggctg aaatccgagt ctactcaaaa gcagataaac 3360
ctaagtacct gtcttttgat gaggagcttg tgcaggttgc tgggcttcca gctattgaaa 3420
gaggagccct gacagagatt gcttcgaggc tttgaactag gacactcaga gatggaagtt 3480
cttccaataa tccgacacct tttgcccctg ttgatggtcc tcctgttgat atcttgccta 3540
acaaggaatt catgctatat ggacgatctg ctaatagtcc cccatatgga gggcctgcta 3600
atgatccacc atatggaaga cctgccattg atccaccata tggaagacca atatccacaa 3660
tatggaagac ctgccaatga tccaccatat agaagacctg tcaatgatac atcatattga 3720
gggttgaaca atgatgggcc tcgtgatcag gcccggtcct gaggggggtc gaatggggcg 3780
atcgctccgg gcccccgat tcccagggcc cccacctatc tgtgcaacga gtagtagcga 3840
tcttccagcg cgcaacgtga ggcgatgtt ctccgtgatt tcgccggcct gcaactgcga 3900
gatcgcgagt ataacgatca gccgatcgat ctcatctgcc gactgccatg ctgatgccac 3960
acgcaagcgc agcatatcag ccttatcttg gttgatcggc atgctggacg agcacatctg 4020
ttgtcgcac aactgctgac tgctatata gtgctggtgc tgaatcgatc gattgtcgtc 4080
acggaagtga agaacaacca cggcactgct gcctgctggg ctctagccgc catcagtaag 4140
ctgcggagct gatccatgga cgtgaggatt accgaagact gtcaggcttc actgggtatc 4200
cagggtggtc tgtcgaattg tggattccaa atagttaact ggagtctgtc attggtgttg 4260
gtggtgtcaa tctagctgag atccgtctgg tatagcgtaa gagaaacatc atgcactatc 4320
cccagtcata accatgcccc aatggccacc aatagttttc ctctgaaaa tctccccttg 4380
atcccagatc tctggtgcga gagtgaagtt gcacgaagcc catcctggtt cttccgagtc 4440
cattgtggag atccagggca ttccggatca agtgaaagcc gcacagagcc ttctgcaagg 4500
cttcatcggc gcaagcagca acagcaggca ggcgccccag tcctctcgca tggcccatta 4560
tttttagtaa gctggaggac attcgcaaca ggggggtcag tggtcactgc aaagctgagt 4620
ttgttcttca gticaactgc agaaaattgc agatcggttg ccgtagttgc tagaacggtg 4680
catagtggcc acctaactgt agcgagtggc ataacttatt gtgtgttact gcccaatgtt 4740
gtctctcctt gtgttcatgg attcagactt gtgattgtag tatttctgga tcagactgga 4800
gtaaaagaaa aaaaaaaagg aagacatggg tttacagta agctcaaac gttgacagta 4860
gtaaaataaa aggggtttgt tcactttaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4978

<210> 73

<211> 4722

<212> DNA

<213> rice

<400> 73

cgccgatctc ctacaccatc cctgccatct cctccttccc ctccccctcta tcttccactg 60
gtgccgcccac cctctccgta taagacaaac tgcgttgagg cgttggtttc cgccggcgct 120
gctgctgcac ctgtcagcta gggcgggcat ggcgcgccgc gccgcttccc gcgctgttgg 180
cgcccttcgc tcggacggct cgatccaagg gcgaggaggc cgcgcggggg gcagtggcgc 240
cgaggacgca cgccacgtgt tcgacgaatt gctccgccgt ggcagggggc cctcgatcta 300
cggttgaac cgcgccctcg ccgacgtcgc gcgtgacagc cccgcggccg ccgtgtcccg 360
ctacaaccgc atggcccagc ccggcgccga cgaggtaact cccgacttgt gcacctacgg 420
cattctcatc ggttgctgct gccgcgcggg ccgcttgac ctcggtttcg cggccttggg 480
caatgtcatt aagaaggat ttagagtga gccatcgcc ttactcctc tgctcaaggg 540
cctctgtgcc gacaagagga cgagcgacgc aatggacata gtgctccgca gaatgaccga 600
gctcggctgc ataccaaatg tcttctccta caatattctt ctcaaggggc tgtgtgatga 660
gaacagaagc caagaagctc tcgagctgct gcacatgatg gctgatgatc gaggaggagg 720
tagccacact gatgtggtgt cgtataccac tgtcatcaat ggcttcttca aagaggggga 780
ttcagacaaa gcttacagta cataccatga aatgctggac cgggggattt tacctgatgt 840
tgtgacctac aactctatta ttgctgcgtt atgcaaggct caagctatgg acaaagccat 900
ggaggctactt aacacatgg ttaagaatgg tgtcatgcct gattgcatga catataatag 960
tattctgcat ggatattgct cttcaggga gccgaaagag gctattggat ttctcaaaaa 1020
gatgcgcagt gatggtgtcg aaccagatgt tgttacttat agcttgctca tggattatct 1080
ttgcaagaac ggaagatgca tggaagctag aaagattttc gattctatga ccaagagggg 1140
cctaaagcct gaaattacta cctatggtac cctgcttcag gggtatgcta ccaaaggagc 1200
ccttggtgag atgcatggtc tcttggattt gatggtacga aacggtatcc accctgatca 1260
ttatgttttc agcattctaa tatgtgcata cgctaaacaa gggaaagtag atcaggcaat 1320
gcttgtgttc agcaaaatga ggcagcaagg attgaatccg aatgcagtga cgtatggagc 1380
agttataggc atactttgca agtcaggcag agtagaagat gctatgcttt attttgagca 1440

gatgatcgat gaaggactaa gccctggcaa cattgtttat aactccctaa ttcattggttt 1500
 gtgcacctgt aacaaatggg agagggtga agagttaatt cttgaaatgt tggatcgagg 1560
 catctgtctg aacactatct tctttaattc aataattgac agtcattgca aagaaggagg 1620
 ggttatagaa tctgaaaaac tctttgagct gatggtacgt attggtgtga agcccaatgt 1680
 cattacctac aatactctta tcaatggata ttgcttggca ggtaagatgg atgaagcaat 1740
 gaagttactt tctggcatgg tctcagttgg gttgaaacct aatactgtta cttatagcac 1800
 tttgattaat ggctactgca aaattagtag gatggaagac gcgttagttc tttttaagga 1860
 gatggagagc agtgggtgta gtcctgatat tattacgtat aacataattc tgcaagggtt 1920
 atttcaaacc agaagaactg ctgctgcaaa agaactctat gttaggatta ccgaaagtgg 1980
 aacgcagatt gaacttagca catacaacat aatccttcat ggactttgca aaaacaaact 2040
 cactgatgat gcacttcaga tgtttcagaa cctatgtttg atggatttga agcttgaggc 2100
 taggactttc aacattatga ttgatgcatt gcttaaagtt ggcagaaatg atgaagccaa 2160
 ggatttgttt gttgctttct cgtctaacgg tttagtgccg aattattgga cgtacaggtt 2220
 gatggctgaa aatattatag gacaggggtt gctagaagaa ttggatcaac tctttctttc 2280
 aatggaggac aatggctgta ctgttgactc tggcatgcta aatttcattg ttagggaact 2340
 gttgcagaga ggtgagataa ccagggtggt cacttacctt tccatgattg atgagaagca 2400
 cttttccctc gaagcatcca ctgcttcctt gtttatagat cttttgtctg ggggaaaata 2460
 tcaagaatat tataggtttc tccctgaaaa atacaagtcc tttatagaat ctttgagctg 2520
 ctgaagcatt ttgcagcttt gaaattctgt gttggaattc ttttctcta cagtccattt 2580
 agaggaggga tcttctctgt atgtgtaaat agcgagtttg aatgctagtg gaagctcctt 2640
 tgaccatgtt ttgttgctgc agcatttaag agagtgaaga gaatgcttct ttggtgctgt 2700
 tctggtatgg aaggatccac agataaaatt caggttctac tgcttctctg cttgtaattt 2760
 tcatgaagct gcagtgaata cttgttgac cacttgatct gttgctttga aggagaatat 2820
 agtagtggcc aaggttggtg acggtgatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtgc 2880
 ccagagagga ggggacggcg cgtggtgagc tacaaggcat actcagtga gggcaagatc 2940
 aaggcctccc gtccgtaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa 3000
 tttctggtgc agacaggtgc ttgcggtcag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcttctgaa 3060
 gaaaggttaa ttgttgtttc atctcaggag attccagatg atccagtgc tccaacaatt 3120
 gaggcgctta ttttgctcca tagtaaagtg gaaaggtaat tactgaaatg agaagacgga 3180

ctggggctga aatccgagtc tactcaaaag cagataaacc taagtacctg tcttttgatg 3240
 aggagcttgt gcaggttgct gggcttccag ctattgaaag aggagccctg acagagattg 3300
 cttcgaggct ttgaactagg acactcagag atggaagtgc ttccaataat ccgacacctt 3360
 ttgcccctgt tgatggtcct cctgttgata tcttgccata caaggaattc atgctatatg 3420
 gacgatctgc taatagtccc ccatatggag ggcctgctaa tgatccacca tatggaagac 3480
 ctgccattga tccaccatat ggaagaccaa tatccacaat atggaagacc tgccaatgat 3540
 ccaccatata gaagacctgt caatgataca tcatattgag ggttgaacaa tgatgggcct 3600
 cgtgatcagg cccggctcctg aggggggctg aatggggcga tcgctccggg cccccgatt 3660
 cccaggggccc ccacctatct gtgcaacgag tagtagcgat cttccagcgc gcaacgtgag 3720
 gcgatgtttc tccgtgattt cgccggcctg caactgcgag atcgcgagta taacgatcag 3780
 ccgatcgatc tcatctgccg actgccatgc tgatgccaca cgcaagcgca gcatatcagc 3840
 cttatcttgg ttgatcggca tgctggacga gcacatctgt tgtcgcatca actgctgact 3900
 gctatatatg tgctggtgct gaatcgatcg attgtcgtca cggaagtga gaacaaccac 3960
 ggcactgctg cctgctgggc tctagccgcc atcagctgcg gagctgatcc atggacgtga 4020
 ggattaccga agactgtcag gtctcactgg gtatccaggt ggctctgtcg aattgtggat 4080
 tccaaatagt taactggagt ctgtcattgg tgttggtggt gtcaatctag ctgagatccg 4140
 tctggtatag cgtaagagaa acatcatgca ctatccccag tcataaccat gcccgaatgg 4200
 ccaccaatag ttttcctcgt gaaaatctcc ccttgatccc agatctctgg tgcgagagt 4260
 aagttgcacg aagcccatcc tggttcttcc gagtccattg tggagatcca gggcattccg 4320
 gatcaagtga aagccgcaca gagccttctg caaggcttca tcggcgcaag cagcaacagc 4380
 aggcaggcgc cccagtcctc tcgcatggcc cattattttt agtaagctgg aggacattcg 4440
 caacaggggg gtcagtggtc actgcaaagc tgagtttggt cttcagttca actgcagaaa 4500
 attgcagatc ggttgccgta gttgctagaa cggtacatag ttgccaccta actgtagcga 4560
 gtggcataac ttattgtgtg tiactgcca atgttgtctc tccttggtt catggattca 4620
 gacttgatgat ttagtatttt ctggatcaga ctggagtaaa agaaaaaaaa aaaggaagac 4680
 atgggtttta cagtaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 4722

<210> 74

<211> 6164

<212> DNA

<213> rice

<400> 74

cgcagaagag atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg ccggccgac tctcattctc 60
tccacgccct gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg ccatctcctc ctccccctcc 120
cctctatcct ccactgggtgc cgcccacctc tccgtataag acaaactgcg ttgcggcggtt 180
ggtttccgcc ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc ggcatggcg cgccgcgccg 240
ctccccgcgc tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat ccaagggcga ggaggccgcg 300
cggggggcag tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga cgaattgctc cgccgtggca 360
ggggcgccctc gatctacggc ttgaaccgcg cctcgcga cgtcgcgcgt gacagccccg 420
cggccgccgt gtcccgctac aaccgcatgg cccgagccgg cgccgacgag gtaactcccg 480
acttgtgcac ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccg cgccggccgc ttggacctcg 540
gtttcgcggc cttgggcaat gtcattaaga agggatttag agtggacgcc atgccttca 600
ctcctctgct caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag cgacgcaatg gacatagtgc 660
tccgcagaat gaccgagctc ggctgcatac caaatgtctt ctctacaat attcttctca 720
aggggctgtg tgatgagaac agaagccaag aagctctcga gctgctgcac atgatggctg 780
atgatcgagg aggaggtagc ccacctgatg tgggtgcgta taccactgtc atcaatggct 840
tcttcaaaga gggggattca gacaaagctt acagtacata ccatgaaatg ctggaccggg 900
ggattttacc tgatgtttg acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag 960
ctatggacaa agccatggag gtacttaaca ccatggttaa gaatgggtgc atgcctgatt 1020
gcatgacata taatagtatt ctgcatggat attgctcttc agggcagccg aaagaggcta 1080
ttggatttct caaaaagatg cgcagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt acttatagct 1140
tgctcatgga ttatctttgc aagaacggaa gatgcatgga agctagaaag attttcgatt 1200
ctatgaccaa gaggggccta aagcctgaaa ttactaccta tggtagcctg cttcaggggt 1260
atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc atggctctctt ggatttgatg gtacgaaacg 1320
gtatccaccc tgatcattat gttttcagca ttctaataatg tgcatacgt aaacaaggga 1380
aagtagatca ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg 1440
cagtgcgta tggagcagtt ataggcatac tttgcaagtc aggcagagta gaagatgcta 1500
tgctttatit tgagcagatg atcgatgaag gactaagccc tggcaacatt gtttataact 1560

ccctaattca tggtttgtgc acctgtaaca aatgggagag ggctgaagag ttaattcttg 1620
 aaatgttgga tcgaggcatc tgtctgaaca ctattttctt taattcaata attgacagtc 1680
 attgcaaaga agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgagctgatg gtacgtattg 1740
 gtgtgaagcc caatgtcatt acctacaata ctcttatcaa tggatattgc ttggcaggta 1800
 agatggatga agcaatgaag ttactttctg gcatggcttc agttgggttg aaacctaata 1860
 ctgttactta tagcactttg attaatggct actgcaaaat tagtaggatg gaagacgcgt 1920
 tagttctttt taaggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataaca 1980
 taattctgca aggtttatit caaacagaa gaactgctgc tgcaaaagaa ctctatgtta 2040
 ggattaccga aagtggaaag cagattgaac ttagcacata caacataatc ctcatggac 2100
 tttgcaaaaa caaactcact gatgatgcac ttcagatgtt tcagaaccta tgtttgatgg 2160
 atttgaagct tgaggctagg actttcaaca ttatgattga tgcattgctt aaagttggca 2220
 gaaatgatga agccaaggat ttgtttgttg ctttctcgtc taacggttta gtgccgaatt 2280
 attggacgta caggttgatg gctgaaaata ttataggaca ggggttgcta gaagaattgg 2340
 atcaactctt tctttcaatg gaggacaatg gctgtactgt tgactctggc atgctaaatt 2400
 tcattgttag ggaactgttg cagagagggt agataaccag ggctggcact tacctttcca 2460
 tgattgatga gaagcacttt tccctcgaag catccactgc ttccttgttt atagatcttt 2520
 tgtctggggg aaaatatcaa gaatattata ggtttctccc tgaaaaatac aagtccttta 2580
 tagaatcttt gagctgctga agcattttgc agctttgaaa ttctgtgttg gaattctttt 2640
 ctctacagt cctattagag gagggatctt ctctgtatgt gtaaatacg aggtatgtat 2700
 gccaccttc cgaattatit ttactgttgt tcctagactg taaacaagca attatgttat 2760
 gctgttgatg ccagaaaaaa cataaaagt tgtcgttatc tctactaacg gatcataaag 2820
 ggatttgtga ctggagtttc aaacttaatg tgtctaggca gtaattttga cattagatcc 2880
 aaaacaattt atagggtttc attaaatttc atctatgtgt actgtttagg tgttgaatag 2940
 tttgacttgt tttttaactg aacaaaagat atgtctgaag ctttgttctt taccaaatgc 3000
 agtactgac atcacaatat attttttatg gaacaagatt ggattgtata gaatggttc 3060
 tgatctgatt atcttatctc aacgtattat tatgcacatg tactaatcat gaaatatctg 3120
 atggaatgat gtttctatit acctgtgtga ggcagcaagg agtgagatgg ataacaccac 3180
 atactccctc tgtcccagaa tataagaagt tttagagttg gacacgatta ttaagaaagt 3240
 aggtagaagt gagtagtgga gggttgtgat tgcatgagta gtggaggtag gtgggaaaag 3300

tgaatggtgg agggttgtga ttggttggga agagaatggt ggtagagaag ttgttatatt 3360
ttggggagta cattattatt ctagaacaat actgttgtgc tcaagaagcg ttccaaagat 3420
gtttcacaac ctgtgctcga tgggttttga gcttaatcct gggacattca gtatcatgat 3480
ctgtctcatt cttaaacaatg gaataaagga tgacagcatg atttctttgt ctctataatc 3540
ttttggctac ccacagataa tagctgtaaa tctatactac tttaaaagga gtagtggtgg 3600
tggtgagtgg tgaatctgcc accacccac caccaactct caaaattctg acatgtggga 3660
tcactgtcaa tcccttctcc aagacatgtg ggatcactgt caatcccttc tccaaaccaa 3720
ttgtatgata gaacagtggga aatcacggac agaccatgga gctctcaacc ataatcatcc 3780
ttgcgagtta ataacaaatg gagcgtaaac ttggcaagca aaaaactcaa attaattcta 3840
aaattaagct ctaggattca aaatagattt cctctctgca ttgtgctgtt atgattttta 3900
attccgtaac aacgcaaatg cattttgcta gtcttataaa gaagggttaa tgcaaattatt 3960
ctgattaaat gattgtatct atgaagtttg aatgctagtg gaagctcctt tgaccatgtt 4020
ttgttgtgcg agcatttaag agagtgaaga gaatgcttct ttggtgctgt tctggatgg 4080
aaggatccac agataaaatt caggttctac tgcttctctg cttgtaattt tcatgaagct 4140
gcagtgaata ccttgttgac cacttgatct gttgctttga aggagaatat agtagtggcc 4200
aaggttggtg acggtgatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtgc ccagagagga 4260
ggggacggcg cgtggtgagc tacaaggcat actcagtgga gggcaagatc aaggcctccc 4320
gtccgtaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa tttctggtgc 4380
agacaggtgc ttgcggtcag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcttctgaa gaaagggttaa 4440
ttgttgtttc atctcaggag attccagatg atccagtgtc tccaacaatt gaggcgctta 4500
ttttgctcca tagtaaagta agtacacttg ctgagaacca ccagttgaca acacggcttg 4560
ttgtaccatc aaacaaagtt ggttgtattc ttggggaagg tggaaaggta attactgaaa 4620
tgagaagacg gactggggct gaaatccgag tctactcaaa agcagataaa cctaagtacc 4680
tgtcttttga tgaggagctt gtgcaggttg ctgggcttcc agctattgaa agaggagccc 4740
tgacagagat tgcttcgagg ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata 4800
atccgacacc ttttgcccct gttgatggtc ctctgttga tatcttgcct aacaaggaat 4860
tcatgctata tggacgatct gctaatagtc ccccatatgg agggcctgct aatgatccac 4920
catatggaag acctgccatt gatccaccat atggaagacc aatatccaca atatggaaga 4980
cctgccaatg atccaccata tagaagacct gtcaatgata catcatattg agggttgaac 5040

aatgatgggc ctctgatca ggcccgggtcc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg 5100
ggccccccga ttcccagggc cccacctat ctgtgcaacg agtagtagcg atcttccage 5160
gcgcaacgtg aggcgatgtt tctccgtgat ttccgcccgc tgcaactgcg agatcgcgag 5220
tataacgata agccgatcga tctcatctgc cgactgccat gctgatgcc aacgcaagcg 5280
cagcatatca gccttatctt ggttgatcgg catgctggac gagcacatct gttgtcgcg 5340
caactgctga ctgctatata tgtgctgggtg ctgaatcgat cgattgtcgt cacggaagtg 5400
aagaacaacc acggcactgc tgcctgctgg gctctagccg ccatcagctg cggagctgat 5460
ccatggacgt gaggattacc gaagactgtc aggtctcact gggatatccag gtggctctgt 5520
cgaattgtgg attccaaata gttaactgga gtctgtcatt ggtgttggtg gtgtcaatct 5580
agctgagatc cgtctgggtat agcgtgaagag aaacatcatg cactatcccc agtcataacc 5640
atgccccaat ggccaccaat agttttcctc gtgaaaatct ccccttgatc ccagatctct 5700
gggtcgagag tgaagttgca cgaagcccat cctggttctt ccgagtccat tgtggagatc 5760
cagggcattc cggatcaagt gaaagccgca cagagccttc tgcaaggctt catcggcgca 5820
agcagcaaca gcaggcaggc gcccagtc tctcgcatgg cccattattt ttagtaagct 5880
ggaggacatt cgcaacaggg gggtcagtgg tcaactgcaa gctgagtttg ttcttcagtt 5940
caactgcaga aaattgcaga tcggttgccg tagttgctag aacggtacat agttgccacc 6000
taactgtagc gagtggcata acttattgtg tgttactgcc caatgttgct tctccttggtg 6060
ttcatggatt cagacttggtg attgtagtat ttctggatca gactggagta aaagaaaaaa 6120
aaaaaggaag acatgggttt aacagtaaaa aaaaaaaaaa aaaa 6164

<210> 75

<211> 791

<212> PRT

<213> rice

<400> 75

Met Ala Arg Arg Ala Ala Ser Arg Ala Val Gly Ala Leu Arg Ser

1

5

10

15

Asp Gly Ser Ile Gln Gly Arg Gly Gly Arg Ala Gly Gly Ser Gly

20

25

30

Ala Glu Asp Ala Arg His Val Phe Asp Glu Leu Leu Arg Arg Gly	35	40	45
Arg Gly Ala Ser Ile Tyr Gly Leu Asn Arg Ala Leu Ala Asp Val	50	55	60
Ala Arg Asp Ser Pro Ala Ala Ala Val Ser Arg Tyr Asn Arg Met	65	70	75
Ala Arg Ala Gly Ala Asp Glu Val Thr Pro Asp Leu Cys Thr Tyr	80	85	90
Gly Ile Leu Ile Gly Cys Cys Cys Arg Ala Gly Arg Leu Asp Leu	95	100	105
Gly Phe Ala Ala Leu Gly Asn Val Ile Lys Lys Gly Phe Arg Val	110	115	120
Asp Ala Ile Ala Phe Thr Pro Leu Leu Lys Gly Leu Cys Ala Asp	125	130	135
Lys Arg Thr Ser Asp Ala Met Asp Ile Val Leu Arg Arg Met Thr	140	145	150
Glu Leu Gly Cys Ile Pro Asn Val Phe Ser Tyr Asn Ile Leu Leu	155	160	165
Lys Gly Leu Cys Asp Glu Asn Arg Ser Gln Glu Ala Leu Glu Leu	170	175	180
Leu His Met Met Ala Asp Asp Arg Gly Gly Gly Ser Pro Pro Asp	185	190	195
Val Val Ser Tyr Thr Thr Val Ile Asn Gly Phe Phe Lys Glu Gly	200	205	210
Asp Ser Asp Lys Ala Tyr Ser Thr Tyr His Glu Met Leu Asp Arg	215	220	225
Gly Ile Leu Pro Asp Val Val Thr Tyr Asn Ser Ile Ile Ala Ala	230	235	240
Leu Cys Lys Ala Gln Ala Met Asp Lys Ala Met Glu Val Leu Asn			

245	250	255
Thr Met Val Lys Asn Gly Val Met Pro Asp Cys Met Thr Tyr Asn		
260	265	270
Ser Ile Leu His Gly Tyr Cys Ser Ser Gly Gln Pro Lys Glu Ala		
275	280	285
Ile Gly Phe Leu Lys Lys Met Arg Ser Asp Gly Val Glu Pro Asp		
290	295	300
Val Val Thr Tyr Ser Leu Leu Met Asp Tyr Leu Cys Lys Asn Gly		
305	310	315
Arg Cys Met Glu Ala Arg Lys Ile Phe Asp Ser Met Thr Lys Arg		
320	325	330
Gly Leu Lys Pro Glu Ile Thr Thr Tyr Gly Thr Leu Leu Gln Gly		
335	340	345
Tyr Ala Thr Lys Gly Ala Leu Val Glu Met His Gly Leu Leu Asp		
350	355	360
Leu Met Val Arg Asn Gly Ile His Pro Asp His Tyr Val Phe Ser		
365	370	375
Ile Leu Ile Cys Ala Tyr Ala Lys Gln Gly Lys Val Asp Gln Ala		
380	385	390
Met Leu Val Phe Ser Lys Met Arg Gln Gln Gly Leu Asn Pro Asn		
395	400	405
Ala Val Thr Tyr Gly Ala Val Ile Gly Ile Leu Cys Lys Ser Gly		
410	415	420
Arg Val Glu Asp Ala Met Leu Tyr Phe Glu Gln Met Ile Asp Glu		
425	430	435
Gly Leu Ser Pro Gly Asn Ile Val Tyr Asn Ser Leu Ile His Gly		
440	445	450
Leu Cys Thr Cys Asn Lys Trp Glu Arg Ala Glu Glu Leu Ile Leu		
455	460	465

Glu Met Leu Asp Arg Gly Ile Cys Leu Asn Thr Ile Phe Phe Asn		
470	475	480
Ser Ile Ile Asp Ser His Cys Lys Glu Gly Arg Val Ile Glu Ser		
485	490	495
Glu Lys Leu Phe Glu Leu Met Val Arg Ile Gly Val Lys Pro Asn		
500	505	510
Val Ile Thr Tyr Asn Thr Leu Ile Asn Gly Tyr Cys Leu Ala Gly		
515	520	525
Lys Met Asp Glu Ala Met Lys Leu Leu Ser Gly Met Val Ser Val		
530	535	540
Gly Leu Lys Pro Asn Thr Val Thr Tyr Ser Thr Leu Ile Asn Gly		
545	550	555
Tyr Cys Lys Ile Ser Arg Met Glu Asp Ala Leu Val Leu Phe Lys		
560	565	570
Glu Met Glu Ser Ser Gly Val Ser Pro Asp Ile Ile Thr Tyr Asn		
575	580	585
Ile Ile Leu Gln Gly Leu Phe Gln Thr Arg Arg Thr Ala Ala Ala		
590	595	600
Lys Glu Leu Tyr Val Arg Ile Thr Glu Ser Gly Thr Gln Ile Glu		
605	610	615
Leu Ser Thr Tyr Asn Ile Ile Leu His Gly Leu Cys Lys Asn Lys		
620	625	630
Leu Thr Asp Asp Ala Leu Gln Met Phe Gln Asn Leu Cys Leu Met		
635	640	645
Asp Leu Lys Leu Glu Ala Arg Thr Phe Asn Ile Met Ile Asp Ala		
650	655	660
Leu Leu Lys Val Gly Arg Asn Asp Glu Ala Lys Asp Leu Phe Val		
665	670	675
Ala Phe Ser Ser Asn Gly Leu Val Pro Asn Tyr Trp Thr Tyr Arg		

680	685	690
Leu Met Ala Glu Asn Ile Ile Gly Gln Gly Leu Leu Glu Glu Leu		
695	700	705
Asp Gln Leu Phe Leu Ser Met Glu Asp Asn Gly Cys Thr Val Asp		
710	715	720
Ser Gly Met Leu Asn Phe Ile Val Arg Glu Leu Leu Gln Arg Gly		
725	730	735
Glu Ile Thr Arg Ala Gly Thr Tyr Leu Ser Met Ile Asp Glu Lys		
740	745	750
His Phe Ser Leu Glu Ala Ser Thr Ala Ser Leu Phe Ile Asp Leu		
755	760	765
Leu Ser Gly Gly Lys Tyr Gln Glu Tyr Tyr Arg Phe Leu Pro Glu		
770	775	780
Lys Tyr Lys Ser Phe Ile Glu Ser Leu Ser Cys		
785	790	791

<210> 76
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> artificial sequence
 <220>
 <223> Oligonucleotide primer for amplification
 <400> 76
 tctcattctc tccacgccct gctc 24

<210> 77
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 77

acggcggagc aattcgtcga acac 24

<210> 78

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 78

agtgtgtggc atggtgcatt tccg 24

<210> 79

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 79

ctctacagga tacacggtgt aagg 24

【図面の簡単な説明】

【図 1】

図 1 は、RFLP マーカー座 S 1 2 5 6 4 を起点とする染色体歩行の結果を示す。

【図 2】

図 2 は、BAC クローン A C 0 6 8 9 2 3 とラムダクローンコンティグとの位

置関係を示す。

【図 3】

図 3 は、R f - 1 座極近傍組換え型花粉（いずれも稔性あり）の R f - 1 座極近傍の染色体構成を、その花粉から生じた 1 0 個体（R S 1、R S 2、R C 1 - 8）のマーカースの遺伝子型に基づき、明らかにした結果を示したものである。白抜き部分はジャポニカ型領域を、黒部分はインディカ型領域を示す。

【図 4】

図 4 は、第 1 0 染色体上のマーカースと R f - 1 座との連鎖分析の結果に基づき、R f - 1 座の連鎖地図上での位置を示したものである。地図距離は、1 0 4 2 F 1 個体の分離データから算出した。

【図 5】

図 5 は、相補性試験による R f - 1 領域の同定のために使用した、1 0 個のゲノムクローン由来の断片を示す。染色体歩行により得られた 8 クローン（細い線）を用いて、太い直線で示した染色体領域について相補性試験を行った。X S F 1 8 は、欠失を含むクローンであることが分かったので、その欠失部分は点線で示した。

【図 6】

図 6 は、X S G 1 6 由来の 1 5 . 7 k b（実施例 1 0）及び X S F 1 8 由来の 1 6 . 2 k b 断片（実施例 8）を用いた相補性試験の結果を示す。X S G 1 6 由来の 1 5 . 7 k b では稔性が回復し、稲穂がたれている。

【図 7】

図 7 は、R f - 1 遺伝子構造の模式図を示す。白棒部分および黒線部分は、それぞれエキソンおよびイントロンを示す。エキソン部分については、塩基対数を示してある。

【書類名】

図面

【図 1】

RFLP Probe (S12564)

□

Probe A ■ Probe B ■ Probe F ■ Probe G ■ Probe H ■

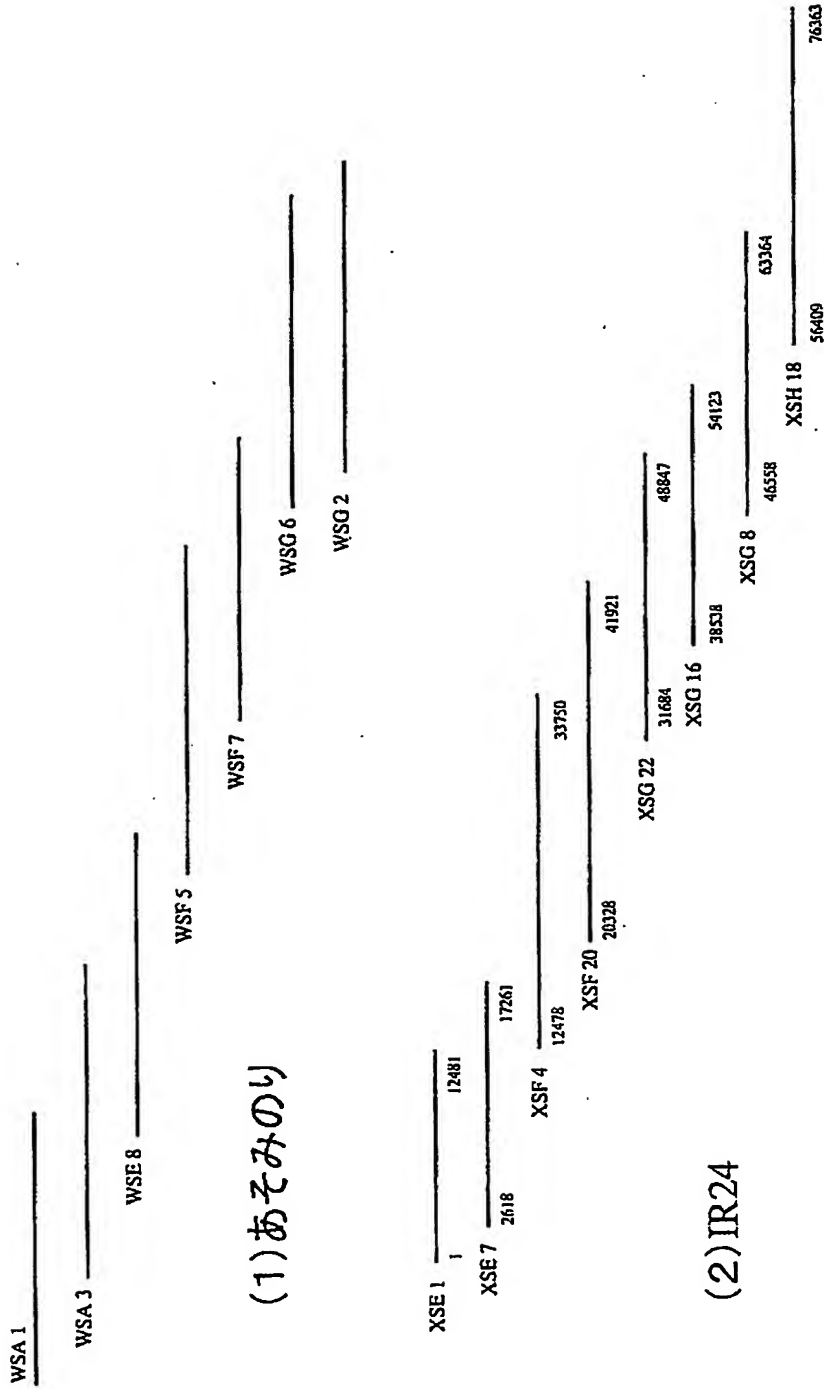


図1. RFLPマーカー S12564 を起点とする染色体歩行

【図2】

あそみのりコンティグ



IR24コンティグ



AC068923

図2. BACクローンAC068923とラムダクローンコンティグの位置関係

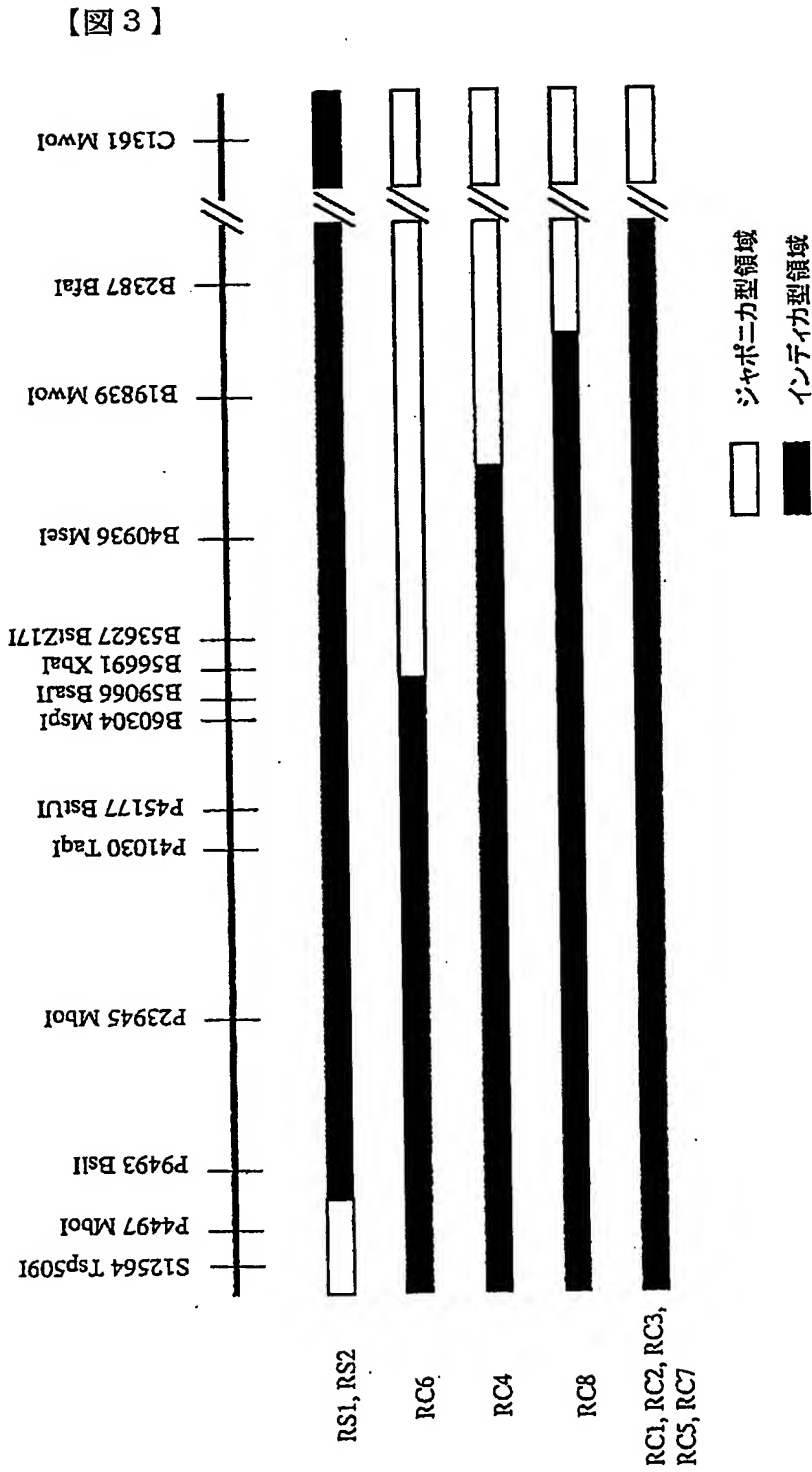


図3. 稔性のある組換え型花粉のRf-1座周辺染色体構成

【図4】

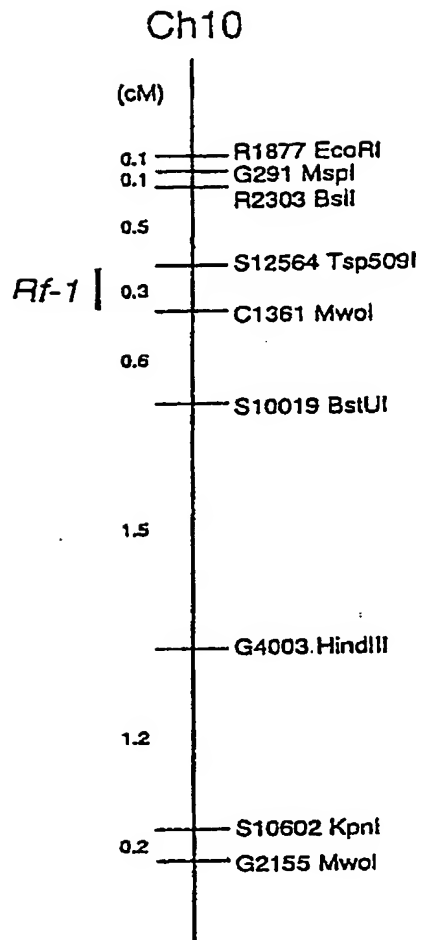


図4 Rf-1座の推定座乗位置

地図距離は1042F1個体の分離データから算出した。

【図5】

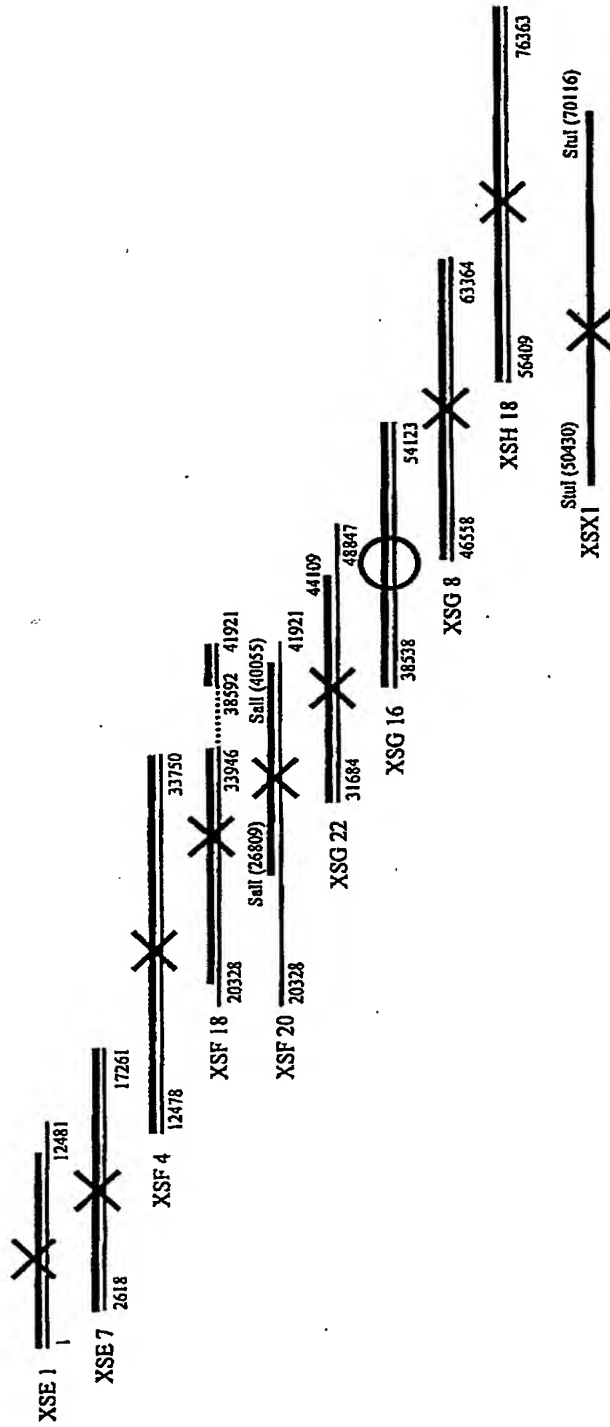
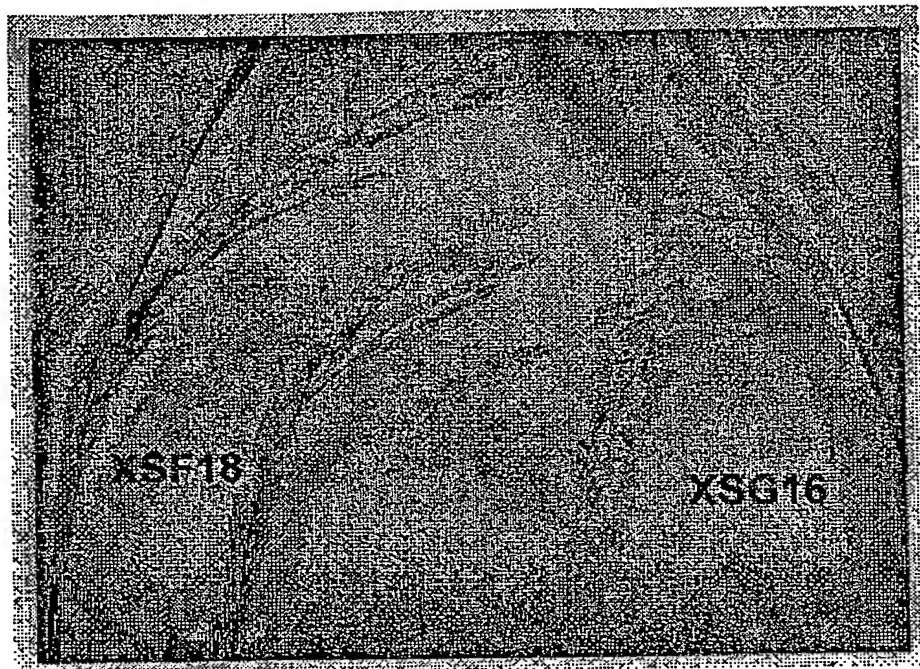


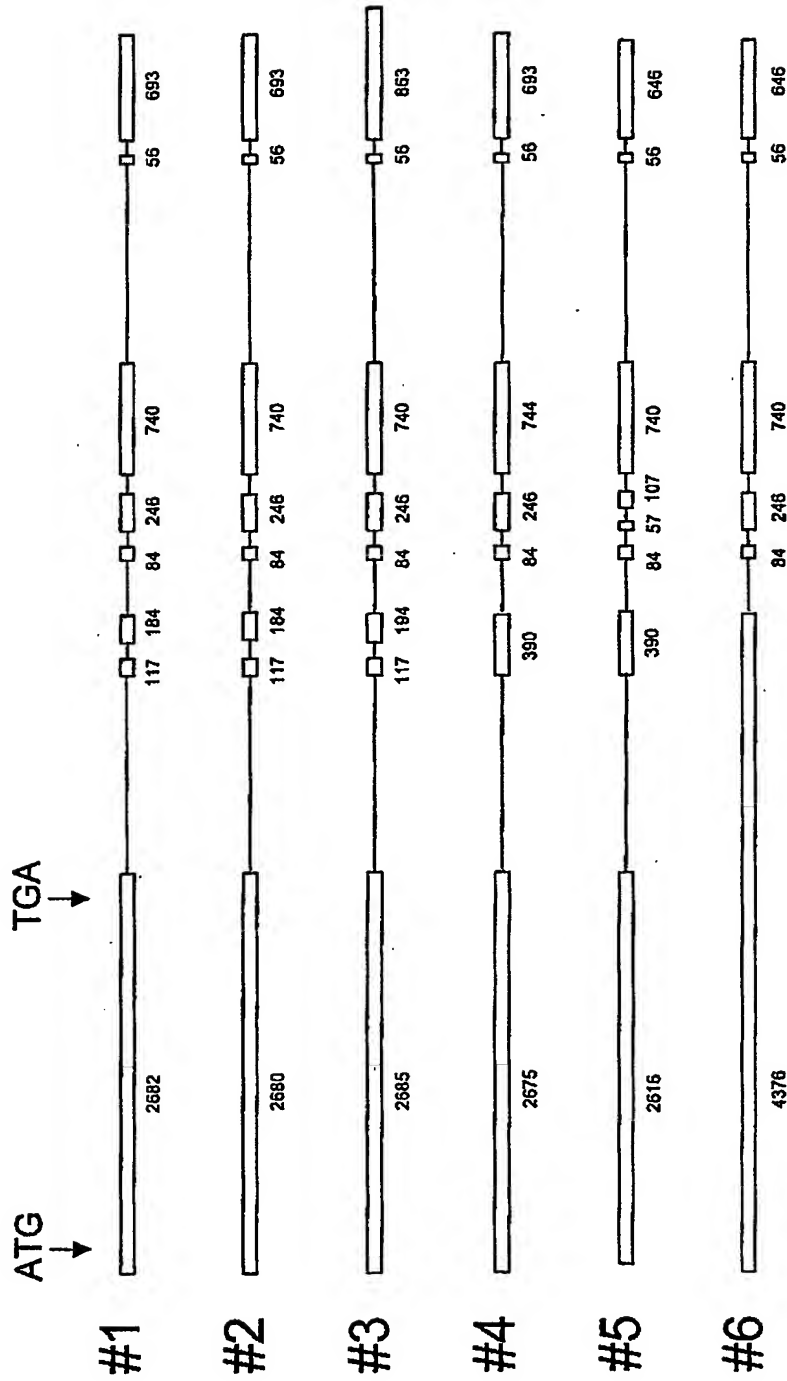
図5. 相補性試験によるRf-7領域の同定

図面の簡単な説明: 染色体歩行により得られたスクローン(細い直線)を用いて、太い直線で示した染色体領域について相補性試験を行った。XSF18は欠失を含むクロンであることが分かったので、その欠失部分は点線で示した。

【図 6】



【図 7】



Rf-1遺伝子構造の模式図

白棒部分および黒線部分は、それぞれ、エキソンおよびイントロンを示す。
エキソン部分については、塩基対数を示してある。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 本発明は、イネBT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子を提供することを目的とする。

【解決手段】 本発明の遺伝子は、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を含む。本発明の遺伝子は、好ましくは配列番号69-74、又は配列番号27の塩基43907-46279に記載の塩基配列を有する。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2002-197560
受付番号	50200990693
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成14年 7月 8日

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】	000004569
【住所又は居所】	東京都港区虎ノ門二丁目2番1号
【氏名又は名称】	日本たばこ産業株式会社

【特許出願人】

【識別番号】	501008820
【住所又は居所】	イギリス国 サリー, ジーユー27 3 ジェイイー, ヘーゼルミア, ファーンハースト
【氏名又は名称】	シンジェンタ リミテッド

【代理人】

【識別番号】	申請人
【住所又は居所】	100089705
【氏名又は名称】	東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
	社本 一夫

【選任した代理人】

【識別番号】	100076691
【住所又は居所】	東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】	増井 忠式

【選任した代理人】

【識別番号】	100075270
【住所又は居所】	東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】	小林 泰

【選任した代理人】

【識別番号】	100080137
【住所又は居所】	東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所

次頁有

認定・付加情報 (続き)

【氏名又は名称】	千葉 昭男
【選任した代理人】	
【識別番号】	100096013
【住所又は居所】	東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町 ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】	富田 博行
【選任した代理人】	
【識別番号】	100107386
【住所又は居所】	東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町 ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
【氏名又は名称】	泉谷 玲子

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000004569]

1. 変更年月日	1995年 5月16日
[変更理由]	住所変更
住 所	東京都港区虎ノ門二丁目2番1号
氏 名	日本たばこ産業株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [501008820]

1. 変更年月日 2001年 1月 5日
 [変更理由] 新規登録
 住 所 イギリス国 サリー, ジーユー27 3ジェイイー, ハーゼル
 ミア, ファーンハースト
 氏 名 シンジェンタ リミテッド

2. 変更年月日 2002年11月 8日
 [変更理由] 住所変更
 住 所 イギリス国サリー ジーユー2 7ワイエイチ, ギルドフォー
 ド, サリー・リサーチ・パーク, プリーストリー・ロード, ヨ
 ーロピアン・リージョナル・センター
 氏 名 シンジェンタ リミテッド

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.